Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 2, Summer 2024, p. 431-449

Effects of Elicitors on Physiological and Phytochemical Characters of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L. Subsp. *angustifolius* Bieb.) in Various Irrigation Conditions

M. Yadegari[1*]

1- Associate Professor, Research Center of Nutrition and Organic Products (R.C.N.O.P), Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
(*- Corresponding Author Email: Mehrab.Yadegari@iau.ac.ir)

Received:	17-12-2023	**How to cite this article:** Yadegari, M. (2024). Effects of elicitors on physiological and phytochemical characters of hyssop (*Hyssopus officinalis* L. Subsp. *angustifolius* Bieb.) in various irrigation conditions. *Journal of Horticultural Science*, *38*(2), 431-449. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.85939.1311
Revised:	05-03-2024	
Accepted:	06-03-2024	
Available Online:	06-03-2024	

Introduction

Hyssopus officinalis L. belongs to the family Lamiaceae, and is one of the endangered endemic species in Iran. This plant is rich in essential oil, flavonoids, monoterpene glycosides, trypanocidal terpenoids, rosmarinic acid, and linolenic acid6. The main compounds of the essential oil from *H. officinalis* L. collected from natural habitats are α-pinene, Sabinene, 3-Carene, Beta-Pinene, Cis- Pinocamphone, Myrtenol, Pinocamphone and Camphor. The environmental factors cause changes in the growth, quantity, and quality of active substances (such as alkaloids, glycosides, steroids and volatile oils) in the medicinal and aromatic plants. Among environmental stresses, water deficit stress plays an important role in the biosynthesis of secondary metabolites in medicinal and aromatic plants in arid and semi-arid regions like Iran. Drought stress has detrimental effects on growth and yield and can upset the balance between the antioxidant defense system and free radicals by stimulating a series of biochemical reactions, where free radicals cause cell damage. In sustainable production systems of medicinal and aromatic plants, stable quantitative and qualitative functions can be achieved under conditions of environmental stress and it is possible to improve the production of secondary metabolites in these plants under adverse environmental conditions. Therefore, this study was done to evaluate the organic elicitors on the physiological and phytochemical properties of *H.officinalis* to determine and introduce the best elicitor under water stress.

Materials and Methods

This investigation was done from spring (May) 2022 to fall (September) 2023 at the Research Farm (latitude. 32°20′ N, longitude. 50°51′ E, altitude. 2061 m). Based on the Köppen climate classification, the climate of the area of study is classified as cold and semiarid. The present study was conducted in a randomized complete block design (RCBD) with three replications to investigate the effect of foliar application of different organic elicitors (chitosan, salicylic acid and phenylalanine) with control level (without any spraying) on the physiological and phytochemical characters of *H. officinalis* L. In each year, treatments were performed in 3 stages (end of vegetative, beginning of flowering and 50% of flowering) and in full flowering, harvesting was done. 3 irrigation regimes (4, 6, 8 day interval) in main plots and foliar application of elicitors in sub plots were done. The essential oils were extracted by hydro-distillation and analyzed using GC/MS.

©2024 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.85939.1311

Results and Discussion

According to obtained results, applied organic elicitors significantly influenced the physiological and phytochemical characters of *H. officinalis* L. However the assayed traits showed slightly variation during the studied years. In two years, the highest chlorophyll content (17.12-17.31 $mg.Kg^{-1}$ FW) and total phenol content (1.77-1.81 $mg.g^{-1}$ DW) were obtained in chitosan (0.5 $mg.l^{-1}$) and phenyl alanine (1000 $mg.l^{-1}$) treatments respectively. In most of measured characters, plants treated with chitosan (0.5 $mg.l^{-1}$) and phenyl alanine (1000 $mg.l^{-1}$) were in the same group. Amounts of some characters in plants treated with phenyl alanine (2000 $mg.l^{-1}$) and salicylic acid (3 mM) lesser than control plants. The main constituents of essential oil were Sabinene, 3-Carene, Beta-Pinene, Cis- Pinocamphone, Myrtenol, Pinocamphone and Camphor (cyclic monoterpenes) that made the most components of essential oil plants. Among of elicitors, the chitosan effect on increasing of physiological and phytochemical characters such as the chlorophyll content was higher than other elicitors. Applied elicitors showed significant effects on essential oil content and composition of *H. officinalis* L. The highest essential oil content (0.89-0.91 %) was obtained from the treated plants by chitosan (0.5 $mg.l^{-1}$). According to the biennial results of the chemical analysis of the essential oils from plants treated with treatments by GC/MS, the most important chemical compounds that determine the quality of *H. officinalis* L. essential oil including Beta-Pinene (17.93-18.53 %), Pinocamphone (24.97-25.12 %) and Cis-Pinocamphone (42.87-45.12 %) were identified. Cis-Pinocamphone belonging to bicyclic monoterpene was the predominant constituent of essential oil of *H. officinalis* L.

Conclusion

According to the results of this study, water deficit stress caused significant phytochemical changes in the *H. officinalis* L. essential oil. The main constituents of the volatile oils of *H. officinalis* L. were Sabinene, 3-Carene, Beta-Pinene, Cis- Pinocamphone, Myrtenol, Pinocamphone and Camphor were identified in the *H. officinalis* essential oil. Generally, Foliar application of chitosan and phenyl alanine significantly increased the monoterpenes compounds in essential oils of *Hyssopus officinalis* L., so that the content of these compounds and essential oil content in treated plants by organic elicitors 63% was more than the control plants. Finally, the application of chitosan at 0.5 $mg.l^{-1}$ can be a good strategy to improve physiological and essential oil quantity and quality of *H. officinalis* L. in cold and semi-arid climates.

Keywords: Chitosan, Cis-Pinocamphone, Foliar application, Irrigation, Phenyl alanine

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۳، ص. ٤٤۹-٤۳۱

اثرات محلول‌پاشی محرک‌های رشدی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L. Subsp. *angustifolius* Bieb.) در شرایط آبیاری مختلف

مهراب یادگاری[1]*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۶

چکیده

زوفا با نام علمی *Hyssopus officinalis* L. از گیاهان دارویی با ارزش و بومی ایران و از خانواده نعناعیان است. عدم رعایت اصول بهره‌برداری، از مخاطرات نابودی این گیاه ارزشمند محسوب می‌گردد. این مطالعه از بهار (اردیبهشت ماه) سال ۱۴۰۱ تا پاییز (مهرماه) سال ۱۴۰۲ در مزرعه تحقیقاتی شهرکرد انجام شد. براساس طبقه‌بندی اقلیمی کوپن، این منطقه دارای اقلیم سرد و نیمه خشک است. تحقیق حاضر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به‌صورت کرت‌های یک بار خرد شده در جهت ارزیابی محرک‌های رشدی آلی بر برخی صفات فیزیولوژیکی، فیتوشیمیایی، اسانس و ترکیبات اسانس گیاه دارویی زوفا انجام گردید. در هر سال، تیمارها در سه مرحله قبل از گل‌دهی، شروع گل‌دهی و ۵۰ درصد گل‌دهی اعمال و در زمان گل‌دهی کامل اقدام به برداشت شد. تیمارهای دوره آبیاری (چهار، شش و هشت روز یک بار) در کرت‌های اصلی و محلول‌پاشی برگی (کیتوزان، اسید سالیسیلیک و فنیل آلانین) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. اسانس‌گیری به‌روش تقطیر با آب، در دستگاه کلونجر و شناسایی ترکیبات با دستگاه GC/MS و GC-FID انجام شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، محرک‌های آلی به‌طور معنی‌داری ($p<0/01$) بر صفات فیزیولوژیکی و اسانس گیاه زوفا تأثیر داشتند. در مورد صفات فیزیولوژیکی بالاترین مقادیر در دو سال تحقیق برای صفات محتوای کلروفیل (۱۷/۱۲- ۱۷/۳۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر) و فنول (۱/۷۷- ۱/۸۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر) در تیمارهای کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) و فنیل آلانین (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) تحت دور آبیاری چهار و شش روز به‌دست آمد. در بین محرک‌های مورد استفاده، اثر کیتوزان بر افزایش میزان کلروفیل کل بیشتر از سایر محرک‌ها بود. در بیشتر صفات مورد ارزیابی، گیاهان تحت تیمار کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر و فنیل آلانین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در یک گروه آماری قرار گرفتند. کاربرد اسید سالیسیلیک و فنیل آلانین در مقادیر بالا بر بسیاری از صفات مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری نداشت و با گیاهان شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند. براساس نتایج دو ساله محرک‌های مورد بررسی اثر معنی‌داری بر کمیت و کیفیت اسانس داشتند. بیشترین مقدار اسانس (۰/۸۹- ۰/۹۱ درصد) از گیاهان تیمار شده با کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) در دور آبی چهار و شش به‌دست آمد که در قیاس با شاهد افزایشی بیش از ۶۳ درصد داشت. تجزیه ترکیبات اسانس زوفا به‌دست آمده از GC/MS مشخص نمود که ترکیبات غالب اسانس در تمامی تیمارها در دو سال انجام تحقیق شامل بتا- پینن، پینوکامفون، سیس- پینوکامفون، میرتنول، سابینن، ۳- کارن، کامفور (مونوترپن‌های حلقوی) بودند. بیشترین مقادیر ترکیبات مهم و تعیین‌کننده کیفیت اسانس شامل بتا- پینن (۱۷/۹۳- ۱۸/۵۳ درصد)، پینوکامفون (۲۴/۹۷- ۲۵/۱۲ درصد)، سیس- پینوکامفون (۴۲/۸۷- ۴۵/۱۲ درصد)، غالباً در تیمارهای کیتوزان در دوره‌های آبیاری چهار و شش روز یک بار به‌دست آمد. ماده مؤثره سیس- پینوکامفون از مونوترپن‌های حلقوی ترکیب غالب در اسانس تمامی گیاهان بود. براساس نتایج به‌دست آمده، استفاده از کیتوزان با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر می‌تواند نقش مؤثری در بهبود صفات فیزیولوژیکی، فیتوشیمیایی و اسانس زوفا تحت شرایط اقلیمی سرد و نیمه خشک داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آبیاری، سیس- پینوکامفون، فنیل آلانین، کیتوزان، محلول‌پاشی

۱- دانشیار مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
(*- نویسندهٔ مسئول: Email: Mehrab.Yadegari@iau.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.85939.1311

مقدمه

خانواده نعناعیان، یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های گیاهی است که تاکنون ۲۰۰ جنس و ۲۰۰۰ گونه متعلق به آن شناخته شده است. از این خانواده، زوفا با نام علمی *Hyssopus officinalis* L. از گیاهان دارویی باارزش و بومی ایران است. گیاهی چند ساله، بوته‌ای با ساقه‌های متعدد چوبی است. برگ‌های این گیاه صاف، فاقد دندانه، باریک، کشیده و کم وبیش نیزه‌ای شکل و رنگ آن سبز و روشن است. این گیاه به خشکی مقاوم است، ولی در آغاز رویش و همچنین پس از اولین برداشت به آب کافی نیاز دارد. پس از اولین برداشت چنانچه شرایط اقلیمی مناسب باشد، به‌خصوص اگر آب کافی در اختیار گیاه باشد (در اواخر تابستان)، گیاهان مجدداً به گل می‌روند (Mozaffarian, 2008). مقدار اسانس زوفا بین ۰/۳ تا ۱ درصد و ترکیب‌های اصلی تشکیل‌دهنده اسانس کامفور، بتاکامفون، پینوکامفن، آلفا و بتا- پینن، کامفن، هیسوپین و ایزوپینوکامفون است (Zawislak, 2013).

با توجه به قرار گرفتن ایران در منطقه خشک و نیمه خشک، تنش آب یکی از مسائل محدودکننده رشدونمو گیاهان است. تنش ملایم آب منجر به افزایش مقادیر اسانس گیاهان دارویی آویشن دنایی (*T. daenensis* L.) و آویشن باغی (*T. vulgaris* L.) (Askary *et al.*, 2018)، گیاه ترخون (*Artemisia dracunculus*) (Mumivand et al., 2021)، افزایش مقادیر مالون دی آلدئید و فنول کل همیشه بهار مکزیکی (*Tagetes minuta*) (Babaei *et al.*, 2021)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گیاه بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica*) (Ghanbarzadeh *et al.*, 2019)، راندمان مصرف آب، اسیدهای فنولیک و کربوهیدرات‌های محلول در آب در چچم (*Lolium multiflorum*) و علف بره (*Festuca arundinacea*) (Fariaszewska et al., 2020)، آنزیم‌های کاتالاز و پرولین گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) (Hayati *et al.*, 2021)، کاهش پتانسیل آب برگ، هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز خالص، تعرق و افزایش سزکویی ترپن‌ها در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia dolomitica* Codd) (Caser *et al.*, 2019) گردید. گیاهان تحت تنش خشکی تولید متابولیت هایی را می‌نمایند که از آن ها در مقابل رادیکال های آزاد از جمله اکسیژن رادیکال محافظت نموده و از کاهش فتوسنتز جلوگیری نمایند (Albergaria *et al.*, 2020). در تنش خشکی اسیدهای آمینه، قندها و متابولیسم تحت تأثیر قرار می‌گیرند. از آنجا که تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به‌وسیله عوامل محیطی تغییر می‌یابد و تنش رطوبتی نیز عامل مؤثری در کاهش رشد و همچنین، ساخت ترکیبات طبیعی گیاهان دارویی می‌باشد (Zandalinas *et al.*, 2017)، بنابراین، ارائه روش‌هایی که گیاه بتواند ماده مؤثره بیشتر تولید نماید، ضروری به نظر می‌رسد که باید به‌طور کامل مورد ارزیابی قرار گیرد.

از جمله روش‌هایی که به‌منظور افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله ترپنوئیدها به‌کار می‌رود، استفاده از محرک‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشد (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2017). کاربرد محرک‌های رشدی به‌میزان محدود و در غلظت‌های پایین، ساخت ترکیبات خاصی را در سلول زنده، تحریک یا بهبود بخشیده و زمان دستیابی به مقادیر بالای متابولیت‌های ثانویه را کاهش می‌دهد. محرک‌های رشدی، ترکیباتی با منشأ زیستی یا غیرزیستی هستند که از طریق القای سیستم دفاعی، باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه و همچنین تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک، در گیاهان می‌شوند (Alavi Samany *et al.*, 2022; Naderi *et al.*, 2017). افزایش راندمان مصرف آب، کاهش تنفس نوری، افزایش سطح و دوام برگ و در نهایت، افزایش عملکرد از اثرات این محرک‌های رشدی است (Kheiri *et al.*, 2020; Yadegari, 2018). تیمار گیاهان با محرک‌ها، مشابه حمله عوامل بیماری‌زا، موجب بروز آرایشی از عکس‌العمل‌های دفاعی، از قبیل تجمع مجموعه‌ای از متابولیت‌های ثانویه‌ی دفاعی در گیاه می‌شود. محرک‌های رشد در گیاه به‌مقدار کمی وجود دارند، امّا برای رشدونمو گیاه ضروری هستند. رفتار رشدونمو گیاهان در معرض محرک‌های طبیعی یا مصنوعی رشد، تغییر می‌کند (Thakur and Kumar, 2020). از محرک‌های رشدی دارای پایه آلی می‌توان اسید سالیسیلیک، فنیل آلانین و کیتوزان را نام برد. کیتوزان از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بسیاری از گونه‌های قارچی، میگو و خرچنگ است که برای بهبود بخشیدن ساخت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی تأیید شده‌اند (Dzung, 2011). از صفات کیتوزان می‌توان به دارا بودن خاصیت ضدویروسی، ضدقارچی، ضدباکتریایی، غیرسمی، غیرآلرژیک بودن، امکان تشکیل ترکیبات پیچیده با یون‌های فلزی و هیدروکربن آروماتیک، ابرجاذب بودن، قابلیت فوق‌العاده برای تبدیل به مواد و مشتقات متعدد در شرایط مختلف، انحلال در محلول‌های اسید آلی ضعیف مانند اسید لاکتیک و اسید استیک و افزایش عملکرد اشاره نمود (Dzung, 2011). در این راستا، کیتوزان باعث افزایش اسانس گیاهان دارویی ریحان (*Ocimum basilicum*) و بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2021)، مرزه (*Satureja hortensis* L.) (Alizadeh *et al.*, 2020)، مرزنگوش (*Origanum vulgare*) (Heng *et al.*, 2012)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

(*Thymus daenensis*) و آویشن دنایی (Ahmad *et al*., 2017) (Emami-Bistgani *et al*., 2017) گردیده است.

فنیل آلانین یکی از محرک‌های آلی و آروماتیک است و به‌عنوان پیش‌ساز فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) در مسیر فنیل پروپانوئید نقش کلیدی دارد (Govindaraju *et al*., 2018). نقش بسیار مؤثر این محرک در افزایش عملکرد کمّی و کیفی اسانس گیاهان دارویی گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) (Rajabzadeh *et al*., 2024)، مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) (Rahmani Samani *et al*., 2019)، زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) (Aghaei *et al*., 2019) و مرزه (*Satureja hortensis*) (Poorghadir *et al*., 2020) گزارش شده است.

از دیگر محرک‌های آلی اسید سالیسیلیک بوده که کاربرد آن منجر به افزایش مقدار اسانس و تحمل به خشکی آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak) (Abdi *et al*., 2022)، افزایش مقادیر فنیل‌پروپانوئیدی کنگرفرنگی (*Cynara scolymus*) (Zamani *et al*., 2016)، اسانس و ترکیبات اسانس گیاهان دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) (Yadegari, 2018)، بومادران (*Achillea millefolium* L.) (Gorni *et al*., 2020)، زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss) (Shaykh-Samani *et al*., 2023) و گونه‌های آویشن (*Thymus kotschyanus* و *Thymus vulgaris*) (Mohammadi *et al*., 2019) شده است. محلول‌پاشی توأم اسید سالیسیلیک، کیتوزان و فنیل آلانین، منجر به افزایش اسانس و ترکیبات اسانس گیاه دارویی گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) (Rajabzadeh *et al*., 2023) شده است.

از آنجایی که هدف از تولید تجاری گیاهان دارویی، به‌دست آوردن مقدار بیشتری ماده خشک در واحد سطح است که دارای مقادیر بالاتری از مواد مؤثره نیز باشد، آگاهی از عوامل مدیریتی مناسب جهت به‌دست آوردن پتانسیل عملکرد گیاه دارویی زوفا بسیار حائز اهمیت است. لذا، معرفی مناسب‌ترین غلظت از محرک‌های رشدی تحت شرایط کم آبیاری در جهت بالا بردن عملکرد و میزان ماده‌ی مؤثره در گیاه دارویی زوفا امری ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

طرح تحقیق: پژوهش حاضر در مزرعه تحقیقاتی پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد با مشخصات عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی و ارتفاع ۲۰۶۱ متر از سطح دریا، در طی سال‌های زراعی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ انجام گردید. طی دو سال زراعی، تیمارهای پایه آلی شامل کیتوزان (۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر)، اسید سالیسیلیک (۱/۵ و ۳ میلی مولار) و فنیل آلانین (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و شاهد (بدون هر نوع محلول‌پاشی) برای این پژوهش انتخاب شد. محلول‌های کیتوزان و فنیل آلانین براساس غلظت‌های تعیین شده در پایه آب تهیه شد. با توجه به جرم مولکولی اسید سالیسیلیک (۱۳۸/۱۲ گرم بر مول)، برای تهیه اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار، ۲۰۷/۱۸ گرم و برای تهیه محلول اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار، ۴۱۴/۳۶ گرم، از آن، ابتدا در اتانول۷۰ درصد حل نموده و سپس با آب، به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پژوهش به‌صورت کرت‌های یک بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و سه سطح آبیاری (چهار، شش و هشت روز یک بار) در کرت‌های اصلی و تیمارهای محلول‌پاشی برگی در سه مرحله (اوج رشد رویشی، شروع گل‌دهی و ۵۰ درصد گل‌دهی) در کرت‌های فرعی انجام شد (Aghaei *et al*., 2019).

کاشت گیاه زوفا: زمین مورد نظر در پاییز شخم زده شده و سپس در بهار پس از مساعد شدن شرایط آب وهوایی کرت اصلی در هر تکرار (بلوک) به عرض حدود هفت متر و طول دو متر (۲×۷) با فاصله ۱/۵ متر از همدیگر آماده و سپس هرکدام از کرت‌ها به سه قسمت مساوی به عرض حدود دو متر با فاصله ۰/۵ متر از همدیگر مجزا و آماده به کشت شدند. این کار در هر تکرار (بلوک) انجام شده و فاصله هر بلوک از هم دو متر و جهت انجام کار عمود بر شیب زمین بود. نشاهای ۴-۶ برگی زوفا تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان، در سال اول در تاریخ ۱۵ اردیبهشت ماه و در سال دوم در ۲۰ اردیبهشت ماه در کرت‌های آزمایشی کاشت شدند و بلافاصله آبیاری انجام شد. مشخصات خاکشناسی و اقلیمی منطقه مورد تحقیق در جدول ۱ و مشخصات آب مورد استفاده جهت آبیاری در جدول ۲ آورده شده است.

برداشت نمونه‌ها: نمونه‌های گیاهی شامل اندام‌های رویشی و گل، در زمان گل‌دهی (باز شدن ۵۰-۷۰ درصد از گل‌ها در هر خوشه) به‌طور جداگانه از هر کدام از تیمارهای تحت آزمایش در سال اول در ۲۴ مرداد ماه و در سال دوم در ۲۸ مرداد ماه جمع‌آوری گردید. همچنین، در همین زمان از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته گیاهان تیمار شده جهت اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی نمونه‌برداری انجام گرفت و نمونه‌های برداشت شده در مزرعه بلافاصله در فویل آلومینیومی پیچیده و بعد از برچسب زدن نام تیمار در تانک حاوی نیتروژن مایع قرار گرفته، به آزمایشگاه انتقال داده و صفات ذیل مورد محاسبه قرار گرفت.

جدول ۱- مشخصات خاکشناسی و اقلیمی محل پژوهش

Table 1- Physicochemical and climatic properties of experimental field

خصوصیات Properties	سال Year 2022	2023
فسفر P (ppm)	82	83
پتاسیم K (ppm)	209.2	212
نیتروژن N (ppm)	0.09	0.08
هدایت الکتریکی EC ($ds.m^{-1}$)	0.41	0.42
کربن آلی Organic Carbon (%)	0.77	0.85
اسیدیته pH	7.4	7.3
میانگین بارش Average rainfall (mm)	311.1	309.3
میانگین دما Average temperature (^0C)	11.6	11.2
میانگین دمای بیشینه Average maximum temperature (^0C)	22.6	21.8
میانگین دمای کمینه Average minimum temperature (^0C)	-12.4	-12.1

جدول ۲- مشخصات آب مورد استفاده جهت آبیاری

Table 2- The properties of irrigation water

کربنات کلسیم HCO_3^- ($meq.l^{-1}$)	کلر Cl^- ($meq.l^{-1}$)	منیزیم Mg^{2+} ($meq.l^{-1}$)	کلسیم Ca^{2+} ($meq.l^{-1}$)	پتاسیم K^+ ($meq.l^{-1}$)	سدیم Na^+ ($meq.l^{-1}$)	کل مواد محلول TDS ($mg.l^{-1}$)	هدایت الکتریکی E.C ($\mu s.cm^{-1}$)	اسیدیته pH
3.42	0.91	1.43	2.28	0.16	0.763	247.93	387	8.11

ادامه جدول ۲- مشخصات آب مورد استفاده جهت آبیاری

Table 2 Continued- The properties of irrigation water

نیترات NO_3^- ($meq.l^{-1}$)	روی Zn ($meq.l^{-1}$)	منگنز Mn ($meq.l^{-1}$)	مس Cu ($meq.l^{-1}$)	آهن Fe ($meq.l^{-1}$)	کادمیم Cd ($meq.l^{-1}$)	سولفات SO_4^{2-} ($meq.l^{-1}$)	کربنات CO_3^{2-} ($meq.l^{-1}$)
23.67	0.001	0.001	0.001	0.009	0	0.001	0.21

اندازه‌گیری صفات مورد ارزیابی: برای برآورد محتوای نسبی آب برگ، ۰/۵ گرم از جوان‌ترین برگ توسعه یافته هر گیاه (FW) جدا کرده و سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر شناور گردیدند. پس از گذشت این مدت، وزن اشباع برگ با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ برآورد گردید (TW). سپس برگ‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از گذشت این مدت وزن خشک برگ‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ برآورد گردید (DW).

در نهایت، محتوای آب نسبی با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید (Arnon, 1975):

% R.W.C= (FW-DW) / (TW-DW)

جهت اندازه‌گیری کلروفیل کل، ۰/۱۲۵ گرم بافت برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد و ۰/۱ گرم کربنات کلسیم (برای خنثی نمودن حالت اسیدی مایع درون سلولی و ممانعت از تخریب کلروفیل) در یک هاون چینی ساییده شد تا به‌صورت توده یکنواختی درآمد. این عمل در نور کم و محیط خنک انجام شد. پس از سانتریفیوژ کردن

عصاره حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ در دقیقه، محلول رویی برداشته شد و جذب نور توسط آن در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل a) و ۶۴۵ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل b) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CARY-100 ساخت واریان استرالیا) و با استفاده از استون ۸۰ درصد به‌عنوان محلول مرجع قرائت گردید (Dere *et al.*, 1998):

$$\text{Chl total (mg.Kg Fw}^{-1}) = (20.21 \times A645) + (8.02 \times A663)$$

محتوای ترکیبات فنول کل با استفاده از معرف فولین- سیوکالتو اندازه‌گیری شد. برای تهیه عصاره متانولی، ۰/۲ گرم (۲۰۰ میلی‌گرم) برگ تازه از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته جدا شد و در هاون چینی با ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۹۹ درصد عصاره‌گیری گردید. سپس به‌مدت پنج دقیقه با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش شفاف قسمت فوقانی آن برای آزمایش‌ها جداسازی شد. سپس به ۰/۲ میلی لیتر از عصاره متانولی، ۱/۸ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر، ۰/۲ میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالتو (رقیق شده با نسبت ۱ به ۱۵) اضافه و به‌خوبی مخلوط گردید. پس از گذشت پنج دقیقه، ۰/۲ میلی‌لیتر محلول بی کربنات سدیم ۷ درصد و ۰/۸ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر به محلول اضافه شد و۹۰ دقیقه در دمای اتاق و شرایط تاریکی نگهداری شد. سپس جذب نمونه‌ها در ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ساخت کشور آمریکا مدل Perklin elmer قرائت و محتوای ترکیبات فنولی کل عصاره‌ها بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک به کیلوگرم وزن تر اندام هوایی محاسبه گردید (Marinova *et al.*, 2005).

جهت تعیین میزان اسید آمینه پرولین، ابتدا ۰/۳ گرم از بافت برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد (وزن به حجم) در هاون چینی ساییده شد. سپس نمونه ساییده شده درون لوله آزمایش ریخته و به‌مدت دو دقیقه به‌شدت تکان داده شد. بدین ترتیب، دو فاز جامد و مایع نمونه‌ها به‌دقت تفکیک گردید. فاز مایع با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه، به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و بخش بالایی آن جدا شد. پس از خنک کردن نمونه‌ها در آب یخ، چهار میلی‌لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه و کاملاً تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن گردد. سپس، نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شدند و در نهایت، میزان جذب نور فاز بالایی نمونه‌ها به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CARY-100 ساخت واریان استرالیا) در طول موج ۵۱۵ نانومتر و با استفاده از تولوئن به‌عنوان محلول مرجع تعیین گردید. در رابطه ذیل، عدد ۱۱۵/۵ وزن مولکولی پرولین می‌باشد (Bates *et al.*, 1973):

پرولین (میکروگرم در گرم وزن تر)= ۱۱۵/۵(میکروگرم در میکرومول) / حجم عصاره (میلی‌لیتر) × پرولین عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر) × وزن نمونه (گرم) /۵

برای اسانس‌گیری، پس از برداشت نمونه‌های گیاهی، به‌منظور محافظت نوری نمونه‌ها و حداقل آسیب به کیفیت اسانس، ساختارهای هوایی در پاکت‌های کاغذی جمع‌آوری شدند. به‌روش هوای آزاد در سایه با دمای معمولی ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد، کاملاً خشک شدند. بعد از خشک شدن ساختارهای هوایی، اقدام به خرد کردن اندام‌های گیاهی گردید. سپس مقدار ۳۰۰ گرم از هر نمونه با ترازوی دیجیتالی مدل Sartorius ساخت کشور آلمان با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد. اسانس‌گیری به‌روش تقطیر با آب، در دستگاه کلونجر (بروسیلیکات آلمانی ساخت شیشه آلات ایران) و براساس درصد وزنی ماده خشک، صورت گرفت که برای هر نمونه مدت تقریبی دو ساعت به طول انجامید. اسانس گیاهان مورد نظر پس از آماده‌سازی، جهت شناسایی ترکیبات به دستگاه GC/MS (مدل7890A/5975C ساخت اجیلنت آمریکا) مجهز به ستون موئینه HP-5MS به‌طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میکرون با محدوده دمایی آون ستون از ۶۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد تزریق گردید. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود درکتب مرجع (Adams, 2007) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری (Wiley and NIST) صورت گرفت.

روش انجام تجزیه داده‌ها: پس از انجام آزمون همگنی واریانس‌های خطای آزمایشی (بارتلت) و مشخص شدن عدم معنی‌داری در هر دو سال، تجزیه مرکب اطلاعات برآمده از پژوهش به‌واسطه نرم‌افزار آماری $SAS_{ver.9}$ انجام شد. مقایسات میانگین اسانس و ترکیبات اسانس از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (L.S.D) در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد و برای اطمینان از مقادیر خطای استاندارد (SE)، به‌طور جداگانه نیز با نرم‌افزار Excel ver. 2013، برآورد مجدد انجام شد.

نتایج و بحث

صفات فیزیولوژیکی: تیمارهای مورد استفاده بر صفات فیزیولوژیکی مورد برآورد، اثرات چشم‌گیری داشتند. به‌جز اثر سه گانه آبیاری- محرک- سال، سایر اثرات ساده و متقابل در غالب موارد در سطح ۹۹ درصد اطمینان (p<۰/۰۱) معنی‌دار بودند (جدول ۳). بیشترین مقادیر صفات مورد ارزیابی در دو سال انجام تحقیق در مورد صفات کلروفیل کل (۱۷/۱۲- ۱۷/۳۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، کلروفیل a (۱۱/۹۱ -۱۳/۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، کلروفیل b (۴/۰۱- ۵/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، محتوای نسبی آب برگ (۶۲/۸- ۶۳/۵ درصد)، در دور آبیاری چهار و شش روز یک بار و در گیاهان تحت تیمار با ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در

لیتر فنیل آلانین بدست آمد؛ هر چند که تیمار ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالسیلیک نیز در برخی از صفات مورد برآورد در گروه مشابهی قرار گرفت. کمترین مقادیر نیز غالباً در دور آبیاری هشت روز یک بار و در گیاهان شاهد و یا در پاره‌ای از موارد با تیمار اسید سالیسیلیک سه میلی‌مولار بدست آمد (جداول ۴–۶). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با کاهش رطوبت یا به عبارتی، افزایش فواصل آبیاری صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی زوفا کاهش یافت. اثر تنش آبی بر توسعه دیواره سلولی در اثر فشار تورژسانس صورت می‌گیرد. بنابراین، هر کاهش در فشار تورژسانس که ناشی از عدم تعادل در وضعیت آب گیاه باشد، منجر به کاهش رشد و حتی در صورت شدید بودن خشکی موجب توقف رشد می‌شود (Fariaszewska *et al.*, 2020; Kulak, 2020). در شرایط کمبود آب به علت صدمات متابولیکی و تغییر سطح متابولیت های مربوطه، تثبیت دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، کمبود آب عموماً باعث تخریب و شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل شده و مقدار فعالیت آنزیم‌ها را طی فرآیند فتوسنتز کاهش می‌دهد (Xiaolu *et al.*, 2016; Zandalinas *et al.*, 2017). به نظر می‌رسد کاربرد محرک کیتوزان از طریق افزایش سطح برگ و فراهم نمودن زمینه مناسب جهت دریافت انرژی و نیز شرکت در ساختار کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوسنتزی موجب افزایش بازده فتوسنتزی می‌شود (Alavi Samany *et al.*, 2022; Alizadeh *et al.*, 2020). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تنش کم‌آبی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) اثر معنی‌دار داشته است. نتایج بەدست آمده از آنالیز رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد که با افزایش شدت کمبود آب در غالب موارد به‌طور معنی-داری از میزان رنگیزه‌های کلروفیل a و b کاسته شد (p<۰/۰۱). به‌طور کلی، اولین واکنش گیاهان در برابر کمبود آب کاهش رشد رویشی آن ها است. رشد سلول مهم‌ترین فرآیند است که با تنش آبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس مرکب صفات نشان داد که تنش کم‌آبی بر تمام صفات مورد ارزیابی اثر معنی‌داری داشته است. البته با توجه به تحمل نسبی این گیاه به خشکی، بیشترین مقادیر صفات فیزیولوژیکی در دور آبی شش روز یک بار بەدست آمد و پس از آن کاهش نسبی در مقادیر محرز بود. کاهش کلروفیل در شرایط خشکی تا حدودی به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن است که باعث پراکسیداسیون این رنگیزه‌ها و سرانجام تجزیه شیمیایی آن‌ها می شود. دلیل دیگر کاهش کلروفیل برگ‌ها، تغییر متابولیسم نیتروژن و استفاده بیشتر از گلوتامات (ماده اولیه سنتز کلروفیل و پرولین) در مسیر تولید پرولین است (Caser *et al.*, 2019). محرک‌ها با تحت تأثیر قرار دادن خصوصیات فیزیولوژیکی، رشد و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. اسید سالیسیلیک با دو مکانیسم افزایش میزان کلروفیل و بهبود فعالیت آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و بهبود رشد زایشی گیاهان تیمار شده دارد (Ali *et al.*, 2021). محرک‌های آلی از جمله کیتوزان منجر به، بهبود سنتز و تجمع کلروفیل می‌شوند و کارایی فتوسیستم‌ها را افزایش می‌دهند و همچنین از طریق افزایش رشد ریشه، جذب عناصر غذایی و میزان سنتز کلروفیل در گیاهان را بهبود می‌بخشند که منجر به افزایش رشد و عملکرد می‌گردند (Abdul-Hafeez & Ibrahim, 2020).

صفات فیتوشیمیایی: تیمارهای مورد استفاده، اثرات معنی‌داری بر صفات فیتوشیمیایی داشتند. به‌جز اثر سه گانه آبیاری– محرک– سال، سایر اثرات ساده و متقابل در سطح ۹۹ درصد اطمینان (p<۰/۰۱) معنی‌دار بودند (جدول ۳). بیشترین مقادیر فنول کل (۱/۷۷ –۱/۸۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، در دور آبیاری چهار و شش روز یک بار و در گیاهان تحت تیمار با ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر فنیل آلانین بەدست آمد. بیشترین مقادیر پرولین در دو سال انجام تحقیق (۳۲/۷۷– ۳۴/۱ میکروگرم در گرم وزن تر) در تیمارهای تحت دور آبیاری هشت روز و در محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سه مولار و یا شاهد به‌دست آمد. کمترین مقادیر پرولین (۱۶/۵۶– ۱۵/۹۹ میکروگرم در گرم وزن تر) نیز در تیمارهای تحت دور آبیاری چهار روز و در محلول‌پاشی کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر ایجاد شد (جداول ۴–۶). کاهش مقدار کلروفیل به هنگام تنش کمبود آب می‌تواند بەدلیل تحریک آنزیم بیوسنتز پرولین یعنی گلوتامیل‌کیناز در پتانسیل آبی پایین باشد. با افزایش تبدیل گلوتامات به پرولین در هنگام تنش خشکی، در واقع گلوتامات که پیش‌ساز کلروفیل نیز می‌باشد، از دسترس خارج شده و سنتز کلروفیل‌ها دچار نقصان می‌شود. به عبارتی، کاهش سنتز کلروفیل می‌تواند به علت کاهش تجمع اسید آمینولوولیئیک باشد. این اسید پیش‌ساز همه تتراپیرول‌ها و پیش‌ساز پروتوکلروفیلید است که در معرض نور به کلروفیل تبدیل می‌شود و در تنش خشکی کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، فعالیت آنزیم گلوتامات‌کیناز که اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل است، با تنش خشکی بسیار کاهش می‌یابد (Caser *et al.*, 2019; Esch *et al.*, 2019). از سوی دیگر، فنولیک اسیدها با داشتن ساختار ویژه دارای پتانسیل بالایی برای برهمکنش با پروتئین‌های مختلف از جمله آنزیم‌ها می‌باشند. به همین دلیل آن‌ها می‌توانند باعث ممانعت از فعالیت آنزیم‌هایی مانند ایزوفرم‌های مختلف سیتوکرم P_{450}، سیکلواکسیژناز، الکل دهیدروژناز، لیپواکسیژناز و زانتین‌اکسیداز شوند که در طی فعالیت خود مقادیر بالای رادیکال‌های آزاد تولید می کنند و از طرفی، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهند (Abdi *et al.*, 2022; Abdul-Hafeez & Ibrahim, 2021).

محرک‌ها با افزایش ظرفیت فتوسنتزی و کربوهیدرات‌ها، مواد اولیه را برای سنتز ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها فراهم می

آورند. علت افزایش ترکیبات فنولی در تیمار با محرک‌های مختلف، اثر این ترکیبات بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز و افزایش فعالیت این آنزیم است (Alizadeh & Fattahi, 2021). از آنجا که این آنزیم یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز همه ترکیبات فنولی است، به نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر نیز تغییر فعالیت این آنزیم یکی از دلایل افزایش مقدار ترکیبات فنولی در گیاهان زوفا باشد. سنتز ترکیبات فنولی در بافت‌های گیاهی وابسته به کربوهیدرات‌ها می‌باشد. به نظر می‌رسد که افزایش جذب عناصر غذایی در تیمارهای محلول‌پاشی به‌طور غیرمستقیم با تحت تأثیر قرار دادن متابولیسم کربوهیدرات‌ها، این ترکیبات را به‌سمت سنتز ترکیبات فنولی هدایت می‌کند که نتیجه آن افزایش مقدار این ترکیبات می‌باشد (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2017). گزارش‌های دیگر نشان داد که کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن می‌باشد که موجب پراکسیداسیون و در نتیجه، تجزیه این رنگیزه‌ها می‌شود. همان‌طور که اشاره شد، کاهش مقدار کلروفیل در اثر تنش خشکی در سایر گونه‌های گیاهی نیز گزارش شده است (Emami-Bistgani *et al.*, 2017; Fariaszewska *et al.*, 2020). با توجه به وجود عنصر نیتروژن در محرک کیتوزان و نقش ساختاری این عنصر در حلقه‌های تتراپیرولی کلروفیل، چنین افزایشی توجیه‌پذیر می‌باشد. از طرف دیگر، احتمالاً مصرف کیتوزان با تأثیر بر روی ژن‌های مسئول سازنده کلروفیل، تولید کلروفیل را زیاد نموده است (Dzung, 2011). میزان رنگیزه‌های کلروفیلی تحت تأثیر کیتوزان افزایش یافت. از نتایج حاصل از این پژوهش نیز می‌توان نتیجه گرفت که محرکی مثل کیتوزان با افزایش محتوای رنگیزه‌ها، روی رشد، متابولیسم و فتوسنتز گیاه زوفا تأثیر مثبتی دارد (Khosh Eqbal *et al*., 2020).

پرولین مکانیسم‌هایی مثل تشکیل باندهای هیدروژنی آبی در اطراف پروتئین‌ها را برای حفاظت ساختار آن‌ها و زدودن رادیکال‌های آزاد فعال می‌کند. به¬طور کلی،گیاهان می‌توانند خودشان را تا اندازه‌ای در مقابل تنش خشکی ملایم توسط تجمع اسمولیت‌ها به‌خصوص پرولین محافظت کنند. با کاهش پتانسیل آب، میزان سنتز پرولین از اسید گلوتامیک افزایش می‌یابد (Caser *et al*., 2019; Esch *et al.*, 2019). تجمع پرولین در زمان تنش، به علت تغییر در سرعت اکسیداسیون پرولین به گلوتامات یا عدم دخالت آن در سنتز پروتئین و یا مجموعه این عوامل می‌باشد. از طرف دیگر، در گیاهان مقاوم به خشکی میزان اکسیداسیون مولکول‌ها کاهش می‌یابد که به یکی از پیامدهای آن افزایش پرولین است (Shaykh-Samani *et al*., 2023). به‌طور کلی، متابولیت‌های ثانویه به گیاهان دارویی و معطر کمک می‌کنند تا گیاه به شرایط و تنش‌های محیطی مانند خشکی سازگاری بیشتری پیدا کند. به‌علاوه، تأثیرات ناشی از تنش در افزایش اسانس عمدتاً به علت اثر آن بر رشدونمو گیاه است. گیاهان غلظت بالایی از متابولیت‌ها را تحت شرایط کمبود آب تولید می‌کنند و مقدار کمتری از کربن را به رشد تخصیص می دهند که نشان از یک تعادل بین دفاع و رشد می‌باشد (Babaei *et al.*, 2021). به‌طور کلی، نتایج تحقیقات نشان داده است که تنش‌های محیطی غیرزنده مانند تنش خشکی اثرات مهمی بر صفات فیتوشیمیایی گیاهان دارویی ایجاد می‌نمایند (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2017). افزایش تنش خشکی در گیاهان، منجر به افزایش اسید آمینه پرولین گردیده و میزان ذخیره آن در سیتوپلاسم سلولی بیشتر می‌شود. این اسید آمینه در حفاظت سلولی نقش دارد و می‌تواند تا اندازه‌ای موجب ادامه جذب آب از محیط ریشه شود، لیکن اتکای گیاه به این ترکیبات آلی برای تنظیم اسمزی هزینه‌بر بوده و گیاه از طریق کاهش عملکرد این هزینه را جبران می‌نماید. تنش خشکی منجر به کاهش میزان کلروفیل کل گیاه گردیده و از این طریق، منجر به کاهش اسانس نیز می‌شود. افزایش صفات مورفولوژیکی از جمله ارتفاع، وزن خشک گیاه در اثر کاربرد مواد محرک گیاهی را می‌توان به افزایش تولید فیتوهورمون‌ها به‌خصوص ایندول استیک اسید نسبت داد (Zakerian *et al*., 2020).

اسانس و ترکیبات اسانس: نتایج نشان داد که اثرگذاری تیمارهای آزمایشی در هر دو سال بر میزان اسانس و ترکیبات غالب اسانس، معنی‌دار بود (جدول ۷). در سال نخست پژوهش حاضر، دور آبیاری شش روز یک بار و محلول‌پاشی کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) و در سال دوم، دور آبیاری چهار روز یک بار و محلول‌پاشی کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) مقدار اسانس استخراج شده از ساختار هوایی گیاهان زوفا را به‌میزان ۰/۸۹ و ۰/۹۱ درصد رسانید که بیانگر کارایی بالاتر تیمار کیتوزان در افزایش سنتز و تجمع اسانس گیاه زوفا است، هر چند که تیمار فنیل آلانین (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نیز در گروه آماری مشابه قرار گرفت. در دور آبیاری بیش از شش روز یک بار، کاهش کلی اسانس و ترکیبات اسانس روی داد و بر این اسانس کمترین مقادیر اسانس و ترکیبات اسانس در دور آبیاری هشت روز یک بار و در گیاهان شاهد به‌دست آمد که در بسیاری از موارد با تیمار اسید سالیسیلیک (۳ میلی مولار) و فنیل آلانین (۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در یک گروه آماری قرار گرفتند. در این دور آبیاری نیز در سال اول تیمار فنیل آلانین و کیتوزان (به‌خصوص در غلظت کم) توانست درصد اسانس را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد (جداول ۸–۱۰).

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب (میانگین مربعات) صفات فیزیولوژیکی گیاه زوفا در سال‌های اجرای تحقیق

Table 3- Combined ANOVA (mean squares) for physiological properties in *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb.

منابع تغییرات S.O.V$_z$	درجه آزادی df$_y$	پرولین Proline	کلروفیل کل Total chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	فنول کل Total phenol	محتوای نسبی آب R.W.C
سال Year (Y)	1	14.1**	9.28**	0.93^{ns}	11.5**	0.14^{ns}	11.4**
تکرار (سال) R (Y)	4	0.8	0.86	1.17	0.15	1.22	0.6
آبیاری Irrigation (A)	2	18.2**	8.9**	14.6**	7.9**	26.05**	15.9**
A × Y	2	11.08**	3.88**	7.65**	17.77**	12.88**	21.04**
خطای کرت‌های اصلی E$_a$	8	1.01	0.17	0.17	0.56	1.21	0.17
محرک Elicitor (B)	6	22.8**	3.2**	12.09**	15.87**	15.77**	16.1**
A × B	12	10.92**	1.1**	8.8**	20.14**	14.89**	19.3**
B × Y	6	9.67**	1.07**	6.34**	15.22**	11.96**	9.89**
A × B × Y	12	0.82^{ns}	0.07^{ns}	0.9^{ns}	1.09^{ns}	1.1^{ns}	0.09^{ns}
خطای کرت‌های فرعی E$_b$	72	0.5	0.09	0.8	1.1	0.87	0.11
ضریب تغییرات CV (%)		3.74	5.12	8.6	6.53	5.88	4.45

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

^{z} SOV: source of variation, ^{y}df: degree of freedom, ^{x}CV: coefficient of variation, *, ** significant at P=0.05 and P=0.01 levels of probability respectively, ns: not significant.

جدول ٤- صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری چهار روز

Table 4- The physiological and phytochemical properties in *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb. plants affected by Elicitors by irrigation interval 4 day

سال Year	تیمارها Treatment*		پرولین Proline (μg.g^{-1} FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.kg^{-1} FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.kg^{-1} FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.kg^{-1} FW)	فنول کل Total phenol (mg.kg^{-1} FW)	محتوای نسبی آب R.W.C (%)
2022	کنترل Control		22.77±0.6^{de}	13.99±0.8^{cd}	4.01±0.01^{b}	9.99±0.7^{c}	1.14±0.02^{c}	58.99±1.2^{b}
	اسید سالیسیلیک	1	21.89±0.5^{e}	14.55±0.6^{b}	4.02±0.02^{b}	10.4±0.5^{bc}	1.16±0.03^{c}	59.11±1.1^{b}
	Salicylic acid	2	19.1±0.9^{f}	14.1±0.8^{cb}	5.01±0.02^{ab}	9.1±0.6^{cd}	1.17±0.01^{c}	59.1±1.3^{b}
	فنیل آلانین	1	16.58±0.6^{fg}	13.58±0.5^{c}	4.02±0.01^{b}	9.58±0.9^{c}	1.77±0.02^{a}	60.22±1.4^{ab}
	Phenylalanine	2	17.66±0.5^{f}	13.78±0.7^{c}	5.02±0.01^{ab}	8.78±0.4^{d}	1.21±0.01^{de}	60.32±1.5^{ab}
	کیتوزان	1	18.82±0.4^{f}	14.82±0.8^{b}	4.01±0.02^{b}	10.82±0.7^{b}	1.22±0.01^{d}	61.42±1.1^{a}
	Chitosan	2	16.56±0.9^{g}	15.11±0.6^{b}	5.02±0.03^{ab}	10.11±0.8^{bc}	1.21±0.01^{de}	63.5±0.9^{a}
	LSD		0.78	1.00	1.00	0.97	0.99	0.66
2023	کنترل Control		23.21±0.3^{d}	12.87±0.3^{c}	4.12±0.02^{b}	8.75±0.2^{d}	1.16±0.01^{e}	54.02±0.8^{c}
	اسید سالیسیلیک	1	22.4±0.4^{de}	13.64±0.5^{c}	4.34±0.01^{b}	9.31±0.1^{cd}	1.17±0.02^{e}	59.23±1.3^{b}
	Salicylic acid	2	20.31±0.5^{e}	14.23±0.6^{bc}	4.42±0.01^{b}	9.81±0.2^{b}	1.18±0.02^{e}	58.31±1.1^{b}
	فنیل آلانین	1	17.63±0.6^{f}	17.31±0.7^{a}	5.7±0.02^{a}	11.63±0.3^{b}	1.21±0.01^{de}	57.91±1.2^{b}
	Phenylalanine	2	18.71±0.4^{f}	16.82±0.4^{ab}	4.91±0.01^{ab}	11.91±0.2^{ab}	1.18±0.01^{e}	60.55±1.3^{ab}
	کیتوزان	1	17.65±0.3^{f}	16.91±0.3^{a}	5.22±0.01^{a}	11.71±0.4^{b}	1.23±0.02^{d}	61.64±1.4^{a}
	Chitosan	2	15.99±0.4^{g}	14.53±0.5^{b}	4.51±0.02^{b}	10.03±0.3^{c}	1.19±0.02^{e}	62.8±0.9^{a}
	LSD		0.91	1.00	0.95	1.00	0.97	0.74

اسید سالیسیلیک ۱: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر

اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند، دارای گروه مشابه هستند.

*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 g.l^{-1}, Phenylalanine 2: 2 g.l^{-1}, Chitosan 1: 0.25 g.l^{-1}. Chitosan 2: 0.5 g.l^{-1}
Numbers in each column that have same word, have same group.

جدول ۵- صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری شش روز

Table 5- The physiological and phytochemical properties in *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb. plants affected by Elicitors by irrigation interval 6 day

سال Year	تیمارها Treatment*		پرولین Proline (μg.g-1 FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.kg-1 FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.kg-1 FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.kg-1 FW)	فنول کل Total phenol (mg.kg-1 FW)	محتوای نسبی آب R.W.C (%)
2022	کنترل (Control)		27.91 ± 1.1^{c}	14.12 ± 0.8^{bc}	2.02 ± 0.03^{d}	12.1 ± 0.5^{ab}	1.15 ± 0.2^{e}	52.9 ± 1.1^{c}
	اسید سالیسیلیک	1	28.65 ± 1.3^{bc}	15.55 ± 0.6^{b}	3.02 ± 0.04^{c}	12.53 ± 0.4^{a}	1.17 ± 0.1^{e}	55.38 ± 1.2^{bc}
	Salicylic acid	2	27.73 ± 0.8^{c}	15.1 ± 0.8^{b}	3.01 ± 0.05^{c}	12.1 ± 0.3^{ab}	1.18 ± 0.1^{e}	56.42 ± 0.9^{b}
	فنیل آلانین	1	28.63 ± 1.1^{c}	14.58 ± 0.5^{b}	3.08 ± 0.02^{c}	11.5 ± 0.5^{b}	1.21 ± 0.2^{de}	57.39 ± 0.8^{b}
	Phenylalanine	2	29.71 ± 0.9^{ab}	15.78 ± 0.7^{b}	3.02 ± 0.03^{c}	12.71 ± 0.4^{a}	1.34 ± 0.1^{d}	58.44 ± 0.7^{b}
	کیتوزان	1	27.07 ± 0.8^{c}	16.82 ± 0.8^{ab}	3.81 ± 0.02^{bc}	13.01 ± 0.6^{a}	1.51 ± 0.2^{c}	59.55 ± 0.8^{b}
	Chitosan	2	28.63 ± 0.7^{cd}	17.12 ± 0.6^{a}	4.01 ± 0.03^{b}	13.12 ± 0.7^{a}	1.26 ± 0.2^{d}	59.64 ± 1.1^{b}
	LSD		0.94	0.95	1.00	0.99	1.00	0.86
2023	کنترل (Control)		28.12 ± 0.8^{bc}	14.25 ± 0.7^{bc}	2.15 ± 0.02^{d}	12.1 ± 0.3^{ab}	1.23 ± 0.01^{de}	52.43 ± 1.2^{c}
	اسید سالیسیلیک	1	28.92 ± 0.9^{bc}	15.14 ± 0.8^{b}	3.15 ± 0.05^{c}	12.01 ± 0.4^{b}	1.29 ± 0.02^{d}	55.62 ± 1.4^{bc}
	Salicylic acid	2	28.82 ± 0.7^{bc}	15.82 ± 0.8^{b}	3.8 ± 0.04^{bc}	12.02 ± 0.3^{b}	1.49 ± 0.03^{c}	56.55 ± 1.3^{b}
	فنیل آلانین	1	29.02 ± 0.8^{ab}	14.93 ± 0.9^{b}	3.9 ± 0.03^{bc}	11.04 ± 0.5^{b}	1.81 ± 0.02^{a}	58.39 ± 1.1^{b}
	Phenylalanine	2	29.17 ± 0.7^{ab}	15.94 ± 0.9^{b}	3.82 ± 0.03^{bc}	12.12 ± 0.4^{ab}	1.72 ± 0.01^{ab}	58.12 ± 1.1^{b}
	کیتوزان	1	28.11 ± 0.9^{c}	16.92 ± 0.8^{a}	3.52 ± 0.02^{c}	13.41 ± 0.6^{a}	1.66 ± 0.02^{b}	54.15 ± 1.2^{c}
	Chitosan	2	28.54 ± 1.1^{c}	16.25 ± 0.7^{ab}	4.15 ± 0.01^{b}	12.11 ± 0.7^{ab}	1.54 ± 0.01^{bc}	57.22 ± 0.9^{b}
	LSD		0.84	0.98	1.00	1.00	0.89	0.95

اسید سالیسیلیک ۱: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر

اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند، دارای گروه مشابه هستند.

*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 $g.l^{-1}$, Phenylalanine 2: 2 $g.l^{-1}$, Chitosan 1: 0.25 $g.l^{-1}$. Chitosan 2: 0.5 $g.l^{-1}$

Numbers in each column that have same word, have same group.

جدول ٦- صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری هشت روز

Table 6- The physiological and phytochemical properties in *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb. plants affected by Elicitors by irrigation interval 8 day

سال Year	تیمارها Treatment*		پرولین Proline (μg.g-1 FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.kg-1 FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.kg-1 FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.kg-1 FW)	فنول کل Total phenol (mg.kg-1 FW)	محتوای نسبی آب R.W.C (%)
2022	کنترل (Control)		28.98 ± 0.9^{bc}	11.01 ± 0.5^{d}	2.01 ± 0.2^{d}	9.01 ± 0.3^{d}	1.15 ± 0.02^{e}	50.02 ± 0.9^{c}
	اسید سالیسیلیک	1	31.92 ± 0.8^{ab}	12.62 ± 0.6^{c}	3.11 ± 0.1^{c}	9.51 ± 0.4^{c}	1.28 ± 0.02^{d}	51.52 ± 0.9^{cd}
	Salicylic acid	2	32.77 ± 1.1^{ab}	13.55 ± 0.7^{c}	3.65 ± 0.2^{bc}	9.89 ± 0.3^{c}	1.12 ± 0.01^{e}	52.55 ± 0.8^{c}
	فنیل الانین	1	30.02 ± 0.7^{b}	12.74 ± 0.5^{c}	3.64 ± 0.05^{c}	9.11 ± 0.5^{cd}	1.55 ± 0.03^{bc}	51.41 ± 0.7^{cd}
	Phenylalanine	2	30.69 ± 0.8^{b}	12.63 ± 0.7^{c}	3.13 ± 0.1^{c}	9.53 ± 0.4^{c}	1.58 ± 0.01^{b}	53.62 ± 0.9^{c}
	کیتوزان	1	30.11 ± 0.9^{b}	13.57 ± 0.6^{c}	3.17 ± 0.1^{c}	10.4 ± 0.6^{bc}	1.63 ± 0.01^{b}	52.31 ± 0.8^{c}
	Chitosan	2	31.88 ± 0.8^{ab}	13.44 ± 0.6^{c}	4.14 ± 0.2^{b}	9.31 ± 0.7^{c}	1.59 ± 0.01^{b}	53.44 ± 1.1^{c}
	LSD		0.95	1.00	0.88	0.95	0.96	1.00
2023	کنترل (Control)		29.55 ± 0.9^{b}	11.14 ± 0.3^{d}	2.14 ± 0.01^{d}	9.01 ± 0.2^{cd}	1.17 ± 0.03^{e}	48.91 ± 1.1^{d}
	اسید سالیسیلیک	1	32.62 ± 0.8^{ab}	10.92 ± 0.4^{d}	2.02 ± 0.02^{d}	8.91 ± 0.3^{d}	1.23 ± 0.02^{de}	50.52 ± 0.9^{d}
	Salicylic acid	2	34.1 ± 1.1^{a}	11.55 ± 0.2^{d}	2.56 ± 0.03^{d}	9.01 ± 0.3^{cd}	1.25 ± 0.01^{d}	49.55 ± 0.7^{d}
	فنیل آلانین	1	32.39 ± 0.7^{ab}	11.74 ± 0.6^{d}	2.75 ± 0.02^{cd}	9.02 ± 0.4^{cd}	1.59 ± 0.02^{c}	52.69 ± 0.7^{c}
	Phenylalanine	2	29.58 ± 0.8^{b}	12.22 ± 0.5^{cd}	2.23 ± 0.01^{d}	10.02 ± 0.4^{c}	1.61 ± 0.01^{bc}	49.98 ± 1.1^{d}
	کیتوزان	1	33.25 ± 0.9^{a}	12.57 ± 0.7^{cd}	2.47 ± 0.0^{d}	10.11 ± 0.5^{c}	1.63 ± 0.03^{b}	51.48 ± 0.7^{cd}
	Chitosan	2	31.63 ± 0.8^{ab}	13.14 ± 0.3^{c}	3.01 ± 0.04^{c}	10.14 ± 0.4^{c}	1.55 ± 0.02^{b}	50.37 ± 0.9^{d}
	LSD		1.00	1.00	0.95	1.00	0.95	1.00

اسید سالیسیلیک ۱: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر

اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند، دارای گروه مشابه هستند.

*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 $g.l^{-1}$, Phenylalanine 2: 2 $g.l^{-1}$, Chitosan 1: 0.25 $g.l^{-1}$. Chitosan 2: 0.5 $g.l^{-1}$

Numbers in each column that have same word, have same group.

نتایج برآمده از تجزیه فیتوشیمیایی اسانس، وجود ۱۵ ترکیب در اسانس این گیاه را نشان داد. بیشترین اجزای موجود در اسانس شامل کامفور، بتا- پین، سیس- پینوکامفون، میرتنول، پینوکامفون، سابینن و ۳- کارن بود. در بین اجزای اسانس، ماده مؤثره سیس- پینوکامفون بیشترین میزان را در تمامی گیاهان تحت تیمار در هر دو سال تحقیق، به خود اختصاص داد (جداول ۸-۱۰). مشخص گردید که اثرگذاری تیمارهای آزمایشی بر مواد مؤثره مونوترپن‌های حلقوی و نیز میزان اسانس، معنی‌دار و در گروه‌های مختلفی قرار گرفتند. با اعمال تیمارهای پایه آلی و مقایسه با نمونه شاهد، روند افزایشی در میزان کمّی و کیفی اسانس مشاهده گردید (جداول ۸-۱۰). میزان ترکیبات غالب اسانس از جمله میرتنول و کامفور به‌ویژه در دور آبیاری هشت روز یک بار در سطوح تیماری اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار و فنیل آلانین ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در کمترین مقادیر و در گروه یکسان با شاهد قرار گرفتند. در سال اول تیمار کیتوزان در دور آبیاری شش روز و در سال دوم تمامی غلظت‌های کیتوزان و فنیل آلانین در دور آبیاری چهار روز بیشترین تاثیر را در افزایش درصد اسانس داشتند. تیمارهای کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) و فنیل آلانین (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین اثر را بر افزایش میزان ماده مؤثره سیس- پینوکامفون و سایر ترکیبات غالب اسانس تمامی گیاهان در هر دو سال، ایجاد نمودند. در بسیاری از مواد مؤثره غالب اسانس، کمترین مقادیر در شاهد به‌وجود آمد. افزایش ناشی از اعمال تیمارهای کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) و فنیل آلانین (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر مقدار اسانس و ترکیبات غالب اسانس در قیاس با گیاهان شاهد، بیش از ۶۳ درصد افزایش نشان دادند (جداول ۸-۱۰).

جدول ۷- تجزیه واریانس مرکب (میانگین مربعات) اسانس و ترکیبات غالب اسانس گیاهان زوفا

Table 7- Combined ANOVA (mean squares) for the essential oil content and main constituents in *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb.

منابع تغییرات S.O.V [z]	درجه آزادی df [y]	اسانس Essential oil	سابینن Sabinene	۳-کارن 3-Carene	بتا-پینن Beta-Pinene	سیس- پینوکامفون Cis-pinocamphone	میرتنول Myrtenol	پینوکامفون Pinocamphone	کامفور Camphor
سال Year (Y)	1	22.1**	7.44**	2.93^{ns}	8.95**	0.22^{ns}	15.1**	11.93**	7.93**
تکرار (سال) R (Y)	4	1.8	0.55	0.11	0.12	0.51	0.72	0.24	0.45
آبیاری Irrigation (A)	2	25.2**	5.61**	14.6**	10.9**	14.11**	14.9**	21.1**	17.6**
آبیاری× سال A × Y	2	37.12**	4.33**	5.44**	22.51**	11.12**	19.11**	5.99**	10.04**
خطای کرت‌های اصلی E_a	8	2.34	0.21	0.11	0.33	1.01	0.22	0.21	0.24
محرک Elicitor (B)	6	31.8**	4.11**	14.11**	21.1**	14.1**	14.1**	24.11**	24.32**
آبیاری × محرک A × B	12	29.54**	3.32**	10.8**	19.1**	12.4**	22.3**	14.8**	21.8**
محرک × سال B × Y	6	15.44**	2.55**	9.88**	18.8**	9.88**	11.12**	10.14**	11.08**
آبیاری × محرک × سال A × B × Y	12	1.02^{ns}	0.09^{ns}	0.12^{ns}	0.05^{ns}	0.91^{ns}	0.15^{ns}	0.09^{ns}	0.42^{ns}
خطای کرت‌های فرعی E_b	72	1.5	0.11	0.43	0.43	0.65	0.24	0.12	0.55
ضریب تغییرات CV (%)		10.12	6.34	8.6	4.22	4.33	6.11	6.6	7.15

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

[z] SOV: source of variation, [y]df: degree of freedom, [x]CV: coefficient of variation, *, ** significant at P=0.05 and P=0.01 levels of probability respectively, ns: not significant.

جدول ۸- اسانس و ترکیبات عمده اسانس زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری چهار روز

Table 8-The essential oil content and main chemical composition (%) in *H.officinalis* L. plants affected by elicitors with irrigation interval 4 day

سال Year	تیمار Treatment*		اسانس Essential oil	سابینن Sabinene	۳- کارن 3-Carene	بتا- پینن Beta-pinene	سیس- پینوکامفون Cis-Pinocamphone	میرتنول Myrtenol	پینوکامفون Pinocamphone	کامفور Camphor
2022	کنترل (Control)		0.69 ± 0.05^{d}	1.69 ± 0.05^{d}	1.2 ± 0.1^{d}	14.1 ± 0.1^{cd}	35.4 ± 0.5^{d}	3.9 ± 0.05^{d}	18.9 ± 0.9^{c}	1.5 ± 0.01^{b}
	اسید سالیسیلیک	1	0.7 ± 0.02^{d}	1.94 ± 0.1^{d}	1.2 ± 0.1^{d}	14.5 ± 0.2^{c}	36.4 ± 0.6^{d}	4.7 ± 0.01^{b}	20.8 ± 0.8^{b}	1.6 ± 0.02^{b}
	Salicylic acid	2	0.71 ± 0.01^{d}	1.97 ± 0.2^{c}	1.3 ± 0.1^{cd}	15.3 ± 0.3^{c}	37.1 ± 0.8^{c}	4.79 ± 0.0^{ab}	19.7 ± 0.7^{bc}	1.71 ± 0.03^{a}
	فنیل آلانین	1	0.71 ± 0.03^{d}	1.99 ± 0.3^{c}	1.5 ± 0.2^{c}	16.2 ± 0.2^{b}	38.1 ± 0.5^{c}	4.85 ± 0.03^{a}	24.97 ± 0.6^{a}	1.89 ± 0.01^{a}
	Phenylalanine	2	0.72 ± 0.03^{cd}	2.03 ± 0.1^{c}	1.5 ± 0.1^{c}	16.4 ± 0.5^{b}	38.7 ± 0.7^{c}	4.91 ± 0.05^{a}	23.72 ± 0.7^{ab}	1.72 ± 0.02^{a}
	کیتوزان	1	0.74 ± 0.04^{d}	2.11 ± 0.1^{c}	1.6 ± 0.1^{c}	15.1 ± 0.2^{c}	39.1 ± 0.8^{bc}	5.01 ± 0.01^{a}	22.4 ± 0.6^{ab}	1.74 ± 0.01^{a}
	Chitosan	2	0.76 ± 0.02^{d}	2.17 ± 0.1^{c}	2.1 ± 0.1^{b}	15.4 ± 0.3^{c}	39.76 ± 0.6^{bc}	5.12 ± 0.02^{a}	23.6 ± 0.6^{a}	1.76 ± 0.02^{a}
	LSD		0.95	1.00	1.00	0.9	1.00	0.95	0.98	1.00
2023	کنترل (Control)		0.71 ± 0.01^{d}	2.69 ± 0.05^{b}	2.06 ± 0.02^{b}	14.22 ± 0.4^{c}	36.4 ± 1.1^{cd}	4.85 ± 0.1^{a}	18.42 ± 0.7^{c}	1.52 ± 0.01^{b}
	اسید سالیسیلیک	1	0.74 ± 0.01^{c}	3.21 ± 0.1^{a}	2.14 ± 0.11^{b}	14.59 ± 0.5^{c}	38.4 ± 1.4^{c}	4.12 ± 0.1^{d}	22.1 ± 0.8^{b}	1.2 ± 0.01^{d}
	Salicylic acid	2	0.72 ± 0.02^{d}	2.97 ± 0.1^{ab}	1.93 ± 0.1^{b}	16.03 ± 0.2^{b}	35.1 ± 1.2^{d}	4.44 ± 0.05^{c}	23.14 ± 0.65^{ab}	1.25 ± 0.02^{d}
	فنیل آلانین	1	0.89 ± 0.03^{a}	3.44 ± 0.1^{a}	2.66 ± 0.1^{a}	16.09 ± 0.3^{b}	41.2 ± 1.2^{b}	4.32 ± 0.1^{c}	24.01 ± 0.64^{a}	1.33 ± 0.01^{c}
	Phenylalanine	2	0.85 ± 0.02^{ab}	2.95 ± 0.2^{ab}	2.51 ± 0.1^{a}	16.24 ± 0.5^{b}	39.7 ± 1.4^{bc}	4.55 ± 0.1^{b}	24.31 ± 0.65^{a}	1.41 ± 0.03^{c}
	کیتوزان	1	0.88 ± 0.03^{a}	3.11 ± 0.1^{a}	2.55 ± 0.05^{a}	15.56 ± 0.4^{bc}	39.78 ± 1.1^{bc}	4.22 ± 0.1^{c}	22.5 ± 0.6^{b}	1.45 ± 0.02^{c}
	Chitosan	2	0.91 ± 0.02^{a}	2.85 ± 0.1^{b}	2.11 ± 0.1^{b}	15.49 ± 0.6^{c}	42.87 ± 1.5^{ab}	3.99 ± 0.05^{d}	24.1 ± 0.7^{a}	1.5 ± 0.01^{b}
	LSD		0.88	1.00	0.95	1.00	0.95	1.00	1.00	0.95

اسید سالیسیلیک۱: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر

اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند، دارای گروه مشابه هستند.

*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 $g.l^{-1}$, Phenylalanine 2: 2 $g.l^{-1}$, Chitosan 1: 0.25 $g.l^{-1}$. Chitosan 2: 0.5 $g.l^{-1}$
Numbers in each column that have same word, have same group.

جدول ۹- اسانس و ترکیبات عمده اسانس زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری شش روز

Table 9-The essential oil content and main chemical composition (%) in *H.officinalis* L. plants affected by elicitors with irrigation interval 6 day

سال Year	تیمار Treatment*		اسانس Essential oil	سابینن Sabinene	۳-کارن 3-Carene	بتا-پینن Beta-pinene	سیس‌پینوکامفون Cis-Pinocamphone	میرتنول Myrtenol	پینوکامفون Pinocamphone	کامفور Camphor
2022	کنترل (Control)		0.69 ± 0.01^{d}	2.69 ± 0.01^{b}	1.9 ± 0.02^{b}	15.69 ± 1.1^{b}	35.4 ± 1.1^{d}	4.17 ± 0.1^{cd}	15.42 ± 0.7^{d}	1.55 ± 0.01^{b}
	اسید سالیسیلیک	1	0.75 ± 0.02^{c}	3.01 ± 0.02^{a}	2.22 ± 0.02^{ab}	16.86 ± 1.2^{b}	38.53 ± 1.2^{c}	4.23 ± 0.2^{c}	17.1 ± 0.9^{c}	1.51 ± 0.02^{b}
	Salicylic acid	2	0.71 ± 0.03^{d}	2.55 ± 0.01^{b}	1.98 ± 0.03^{b}	16.01 ± 0.9^{b}	36.1 ± 1.1^{cd}	4.13 ± 0.05^{d}	15.14 ± 0.8^{d}	1.21 ± 0.02^{d}
	فنیل آلانین	1	0.84 ± 0.04^{b}	3.12 ± 0.02^{a}	2.51 ± 0.01^{a}	17.98 ± 0.8^{a}	44.63 ± 1.4^{a}	4.55 ± 0.1^{b}	20.01 ± 0.7^{b}	1.42 ± 0.02^{c}
	Phenylalanine	2	0.79 ± 0.01^{b}	2.9 ± 0.01^{b}	2.43 ± 0.02^{a}	16.99 ± 1.1^{b}	42.7 ± 1.5^{ab}	3.88 ± 0.05^{d}	23.31 ± 0.85^{ab}	1.49 ± 0.01^{bc}
	کیتوزان	1	0.85 ± 0.03^{ab}	3.11 ± 0.01^{a}	2.31 ± 0.04^{a}	17.56 ± 0.9^{a}	43.92 ± 1.2^{ab}	3.92 ± 0.1^{d}	20.5 ± 0.9^{b}	1.45 ± 0.02^{c}
	Chitosan	2	0.89 ± 0.04^{a}	2.91 ± 0.02^{b}	2.05 ± 0.02^{b}	18.53±0.8a	45.12 ± 1.1^{a}	3.99 ± 0.05^{d}	23.1 ± 1.1^{ab}	1.59 ± 0.02^{b}
	LSD		1.00	1.00	1.00	0.95	0.95	0.95	1.00	1.00
2023	کنترل (Control)		0.61 ± 0.01^{e}	2.12 ± 0.01^{c}	1.7 ± 0.02^{bc}	14.77 ± 0.9^{c}	36.4 ± 1.1^{cd}	3.99 ± 0.1^{d}	19.77 ± 1.1^{bc}	1.43 ± 0.01^{c}
	اسید سالیسیلیک	1	0.72 ± 0.01^{cd}	2.32 ± 0.01^{b}	2.32 ± 0.02^{a}	16.94 ± 0.8^{b}	39.1 ± 0.9^{c}	4.01 ± 0.1^{d}	21.1 ± 1.1^{b}	1.29 ± 0.01^{c}
	Salicylic acid	2	0.71 ± 0.02^{d}	2.21 ± 0.02^{c}	1.77 ± 0.01^{b}	16.54 ± 1.1^{b}	37.1 ± 1.1^{c}	3.77 ± 0.2^{d}	20.88 ± 0.7^{b}	1.22 ± 0.03^{d}
	فنیل آلانین	1	0.82 ± 0.02^{b}	2.58 ± 0.03^{b}	2.42 ± 0.01^{a}	17.03 ± 0.9^{ab}	42.85 ± 0.8^{ab}	4.2 ± 0.2^{ab}	23.53 ± 0.6^{a}	1.55 ± 0.03^{b}
	Phenylalanine	2	0.81 ± 0.01^{b}	2.4 ± 0.01^{bc}	2.43 ± 0.01^{a}	16.55 ± 1.1^{b}	42.11 ± 1.2^{b}	3.92 ± 0.2^{d}	22.2 ± 0.6^{ab}	1.32 ± 0.01^{c}
	کیتوزان	1	0.73 ± 0.04^{c}	3.2 ± 0.02^{a}	2.12 ± 0.02^{b}	17.11 ± 0.8^{ab}	39.5 ± 1.1^{bc}	4.2 ± 0.1^{ab}	23.5 ± 0.7^{a}	1.45 ± 0.04^{c}
	Chitosan	2	0.86 ± 0.02^{a}	3.3 ± 0.03^{a}	2.09 ± 0.01^{b}	17.93 ± 1.1^{a}	42.12 ± 1.3^{b}	4.87 ± 0.1^{a}	25.12 ± 0.8^{a}	1.19 ± 0.04^{d}
	LSD		0.95	1.00	0.95	1.00	1.00	0.95	0.95	0.87

اسید سالیسیلیک ۱: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر

اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند، دارای گروه مشابه هستند.

*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 $g.l^{-1}$, Phenylalanine 2: 2 $g.l^{-1}$, Chitosan 1: 0.25 $g.l^{-1}$. Chitosan 2: 0.5 $g.l^{-1}$ Numbers in each column that have same word, have same group.

جدول ۱۰- اسانس و ترکیبات عمده اسانس زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری هشت روز

Table 10-The essential oil content and main chemical composition (%) in ***H.officinalis*** L. plants affected by elicitors with irrigation interval 8 day

سال Year	تیمار Treatment*		اسانس Essential oil	سابینن Sabinene	۳-کارن 3-Carene	بتا-پینن Beta-pinene	سیس-پینوکامفون Cis-pinocamphone	میرتنول Myrtenol	پینوکامفون Pinocamphone	کامفور Camphor
2022	کنترل (Control)		0.65 ± 0.02^{de}	1.92 ± 0.02^{cd}	1.12 ± 0.04^{d}	12.59 ± 1.1^{d}	33.89 ± 1.4^{d}	3.77 ± 0.1^{d}	19.1 ± 0.7^{c}	1.12 ± 0.01^{d}
	اسید سالیسیلیک	1	0.69 ± 0.01^{d}	2.02 ± 0.01^{c}	2.21 ± 0.04^{ab}	14.88 ± 0.8^{c}	37.1 ± 1.2^{c}	4.01 ± 0.2^{d}	18.1 ± 0.8^{c}	1.22 ± 0.02^{d}
	Salicylic acid	2	0.72 ± 0.03^{cd}	2.11 ± 0.03^{c}	2.01 ± 0.01^{b}	15.59 ± 1.2^{b}	39.77 ± 0.9^{bc}	3.99 ± 0.2^{d}	13.14 ± 0.9^{e}	1.33 ± 0.03^{c}
	فنیل آلانین	1	0.84 ± 0.02^{b}	2.44 ± 0.04^{bc}	1.51 ± 0.03^{c}	17.11 ± 0.9^{a}	38.88 ± 0.8^{c}	4.55 ± 0.1^{b}	15.53 ± 0.8^{d}	1.41 ± 0.04^{c}
	Phenylalanine	2	0.75 ± 0.03^{c}	2.55 ± 0.01^{b}	1.88 ± 0.01^{b}	17.55 ± 0.8^{a}	40.12 ± 1.1^{b}	4.77 ± 0.2^{b}	20.2 ± 0.7^{b}	1.29 ± 0.01^{cd}
	کیتوزان	1	0.81 ± 0.02^{b}	3.01 ± 0.03^{a}	1.99 ± 0.03^{b}	17.86 ± 0.9^{a}	41.16 ± 1.2^{b}	4.81 ± 0.3^{a}	19.5 ± 0.8^{c}	1.67 ± 0.03^{b}
	Chitosan	2	0.71 ± 0.01^{d}	2.95 ± 0.04^{ab}	2.23 ± 0.01^{b}	17.91 ± 1.2^{a}	42.55 ± 0.9^{b}	4.31 ± 0.2^{c}	18.12 ± 0.6^{c}	1.65 ± 0.03^{b}
	LSD		0.95	0.98	0.95	0.95	0.95	1.00	1.00	1.00
2023	کنترل (Control)		0.65 ± 0.01^{de}	2.21 ± 0.01^{c}	1.71 ± 0.02^{bc}	12.59 ± 1.2^{d}	36.8 ± 1.1^{cd}	4.39 ± 0.02^{c}	14.17 ± 1.1^{d}	1.23 ± 0.01^{d}
	اسید سالیسیلیک	1	0.61 ± 0.01^{e}	2.37 ± 0.01^{c}	1.69 ± 0.04^{bc}	14.45 ± 0.8^{c}	35.1 ± 1.1^{d}	4.11 ± 0.02^{d}	18.96 ± 0.8^{c}	1.17 ± 0.02^{d}
	Salicylic acid	2	0.59 ± 0.02^{e}	2.21 ± 0.02^{c}	1.55 ± 0.02^{c}	12.83 ± 1.4^{d}	34.12 ± 0.9^{d}	3.92 ± 0.03^{d}	17.14 ± 1.2^{c}	1.18 ± 0.01^{d}
	فنیل آلانین	1	0.63 ± 0.02^{e}	2.44 ± 0.04^{b}	1.71 ± 0.03^{bc}	15.01 ± 1.1^{c}	37.71 ± 0.7^{c}	4.43 ± 0.03^{c}	19.53 ± 0.9^{c}	1.32 ± 0.04^{c}
	Phenylalanine	2	0.61 ± 0.01^{e}	2.63 ± 0.03^{b}	1.82 ± 0.02^{b}	14.91 ± 0.8^{c}	38.81 ± 1.1^{c}	4.12 ± 0.04^{d}	21.2 ± 0.7^{b}	1.29 ± 0.02^{cd}
	کیتوزان	1	0.7 ± 0.03^{d}	3.19 ± 0.02^{a}	1.92 ± 0.02^{b}	15.21 ± 1.2^{c}	39.12 ± 0.9^{c}	4.41 ± 0.04^{c}	19.81 ± 1.2^{bc}	1.51 ± 0.01^{b}
	Chitosan	2	0.65 ± 0.02^{de}	2.91 ± 0.03^{b}	2.02 ± 0.01^{b}	15.11 ± 0.9^{c}	38.91 ± 0.7^{c}	4.22 ± 0.03^{d}	21.12 ± 0.9^{b}	1.42 ± 0.02^{c}
	LSD		1.00	0.95	0.95	1.00	0.98	0.95	0.96	0.88

اسید سالیسیلیک ۱: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند، دارای گروه مشابه هستند.

*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 $g.l^{-1}$, Phenylalanine 2: 2 $g.l^{-1}$, Chitosan 1: 0.25 $g.l^{-1}$. Chitosan 2: 0.5 $g.l^{-1}$ Numbers in each column that have same word, have same group.

کاهش سطح برگ در اثر تنش خشکی ملایم، موجب بالا رفتن تراکم غده‌های روغنی در برگ شده و مقدار تجمع اسانس را افزایش می‌دهد (Pradhan *et al.*, 2017). تغییرات بیوسنتز ترکیبات ترپنوئیدی از جمله مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌ها ممکن است به علت تغییرات بیوانرژیتیک سلول‌های گیاهی در پاسخ به عناصر مغذی باشد و به نظر می‌رسد که یکی از دلایل اختلاف در مقدار و نوع برخی از ترکیبات اسانس گیاه مورد آزمایش، مربوط به اختلاف جایگاه‌های بیوسنتزی ترکیبات از نظر بهره‌گیری از منابع انرژی باشد (Sasani *et al.*, 2021). محرک‌ها برای گیاه، پیام‌های شیمیایی ارسال می‌کنند که سبب پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و تجمع فیتوآلکسین می‌شود. طی پاسخ به محرک، سیستم دفاعی گیاه فعال شده و در نتیجه بیان ژن‌های دفاعی، متابولیت‌های ثانویه و محتوای اسانس، افزایش می‌یابند (Ali, 2021; Babaei *et al.*, 2021). ترکیبات اسانس با محلول‌پاشی ترکیبات آلی به‌ویژه اسید سالیسیلیک و فنیل آلانین به دلیل راه‌اندازی چرخه سنتز اسید آمینه و آنزیم‌های پروتئینی در افزایش ترکیبات اسانس مؤثرند. به‌طور کلی، هر افزایشی در کل کربوهیدرات‌های گیاه موجب افزایش سنتز اسانس در بافت مسئول سنتز این ترکیبات می‌شود (Caser *et al.*, 2019; Kulak, 2020). یکی از دلایل بیشتر شدن مقدار اسانس را می‌توان به‌دلیل افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و تأثیر افزایش جذب عناصر غذایی در ساختمان و کارکرد کلروپلاست دانست که این افزایش ممکن است به تولید بیشتر غده‌های ترشح‌کننده اسانس در برگ منجر می‌شود. از آنجایی که غده‌های ترشح‌کننده اسانس گیاهان نعناعیان در برگ‌ها قرار دارند، هر عاملی که سبب افزایش سطح و وزن برگ‌ها شود، مقدار اسانس را نیز افزایش خواهد داد. ازاین‌رو، به نظر می‌رسد افزایش تولید کلروفیل، سبب افزایش بافت‌های فتوسنتزی، افزایش رشد برگ‌ها و در نهایت، منجر به افزایش عملکرد اسانس خواهد شد (Ali *et al.*, 2021; Abdul-Hafeez & Ibrahim, 2021). از سوی دیگر، بیوسنتز ترپنوئیدها با اتصال سر به دم ایزوپنتیل دی‌فسفات به ایزومر دی‌متیل آلیل دی‌فسفات ادامه می‌یابد که با این اتصال ژرانیل دی‌فسفات (GPP) حاصل می‌شود. تشکیل مونوترپنه‌های الکلی با مونوترپن گاماترپینن (GT) شروع شده و در ادامه از طریق پی‌سایمن آروماتیک، واکنش‌ها به‌سمت سنتز آن‌ها پیش می‌رود. گاماترپینن که به‌وسیله آنزیم گاماترپینن‌سنتاز (GTS) کاتالیز می‌شود، پیش ماده مونوترپن‌های آروماتیک، در ادامه مسیر بوده و بنابراین، نقش اساسی را در این مسیر ایفا می‌نماید (Thakur & Kumar, 2020; Bohlman & Keeling, 2008). بنابراین، به نظر می‌رسد که تیمارهای به‌کار رفته در این پژوهش، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و در نتیجه، بازده فتوسنتزی در زوفا را افزایش داده و از این طریق بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس نیز تأثیرگذار بوده‌اند. با توجه به اینکه بیوسنتز ترپنوئیدها در تریکوم‌ها، توسط ژن‌ها کنترل می‌شوند اثر اصلی محرک‌ها بر تولید اسانس به تأثیر آن‌ها بر ژن‌ها و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم ثانویه گیاه مربوط می‌شود (Pandey *et al.*, 2017).

به‌طور کلی، محرک‌های مختلف از جمله کیتوزان (Alizadeh *et al.*, 2020) و اسید سالیسیلیک (Momeni *et al.*, 2020; Abdi *et al.*, 2022) نقش مهمی در فعال کردن آنزیم‌های مسیر متابولیسم

ثانویه گیاهان می‌کنند. کاربرد کیتوزان احتمالاً به‌دلیل افزایش جذب CO_2، کاهش تعرق، تنظیم ژن و القای آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز ترپنوئیدها، محتوای اسانس را تغییر می‌دهد (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2021; Abdul-Hafeez & Ibrahim, 2021). بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر رشدونمو گیاه است که به رفتارهای فیزیولوژیکی گیاه به‌ویژه ظرفیت فتوسنتز بستگی دارد. تغییرات مشاهده شده در کیفیت اسانس گیاهان تیمار شده را می‌توان به تفاوت در اثرات هر یک از محرک‌ها بر رشد گیاه، پاسخ گیاه به عوامل زیستی و غیرزیستی که منجر به افزایش مواد مؤثره گیاه می‌شود، نسبت داد (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2021).

تحت تنش خشکی مقادیر مواد مؤثره گیاهان دارویی رفتار مختلفی دارند. چنانچه در زمان رسیدگی و بروز تنش خشکی میزان ماده آلفا-پینن در گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) کاهش، ولی در اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) افزایش یافت. ترکیبات مؤثره آلفا-پینن، لیمونن و اوکالیپتول در مریم گلی (*Salvia officinalis*) کاهش یافت درحالی‌که این ترکیبات در ریحان (*Ocimum basilicum*) افزایش یافتند (Kulak, 2020). در گیاهان دارویی قدومه (*Alyssum desertorum*)، آویشن (*Thymus vulgaris*)، همیشه بهار (*Calendula officinalis*)، گاوزبان (*Borago officinalis*) (Yadegari, 2017) و گونه‌های مرزه (*Satureja*) (Yadegari, 2022)، تنش آبی منجر به کاهش درصد اسانس و نیز برخی از مواد مؤثره اسانس می‌گردد. کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در هنگام کمبود آب همچنین ممکن است به‌دلیل تغییر در مجموعه‌های لیپید- پروتئین رنگیزه‌ها و کاهش سنتز کمپلکس‌های رنگدانه‌ای و یا تخریب کمپلکس‌های پروتئین- رنگدانه به دام اندازنده نور و یا به‌دلیل تخریب اکسیداتیو لیپیدها و پروتئین‌های کلروپلاست باشد (Caser *et al.*, 2019; Esch *et al.*, 2019).

تنش خشکی با تحریک سنتز متابولیت‌های ثانویه از طریق مسیرهای متابولیکی در گیاهان دارویی و معطر که برخی از آن‌ها ناشناخته هستند، سبب تغییرات میزان کمّی و کیفی متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Emami Bistgani *et al.*, 2017). بهبود در عملکرد اسانس با استفاده از کیتوزان ممکن است به‌دلیل افزایش در رشد، جذب مواد غذایی و یا تغییر در تعداد غده‌های ترشحی برگ و یا بیوسنتز مونوترپن ها باشد (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2017; Hawrylak-Nowak *et al.*, 2021). براساس نتایج تجزیه فیتوشیمیایی اسانس، ترکیبات مهم اسانس زوفا در این تحقیق پینوکامفون، سیس- پینوکامفون، میرتنول و بتاپینن بودند. شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس زوفا توسط بسیاری از پژوهشگران مورد بررسی قرار گرفته است. در تحقیقی مشخص شد که مهم‌ترین ترکیبات اسانس زوفا، سیس پینوکامفن و بتا پینن است (Khosh Eqbal *et al.*, 2020). در برخی پژوهش‌ها، ترکیبات متفاوتی به‌عنوان ترکیب غالب گزارش شده است، میرتنیل استات از شمال ایران (Fathiazad *et al.*, 2011)، تیمول و بیزابولول از استان فارس (Saebi *et al.*, 2021) گزارش شده است.

در پژوهشی گزارش گردید که میزان ماده مؤثره سیس پینوکامفن در تنش خشکی شدید نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد، ولی بتا پینن در هر دو سطح تنش نسبت به شاهد افزایش قابل توجه داشت و افزایش آن در تنش خشکی ملایم بیشتر بود (Khosh Eqbal *et al.*, 2020). تنش خشکی با اختلال در فتوسنتز و تنفس، درصد و ترکیب شیمیایی اسانس را تحت تأثیر قرار می دهد (Pradhan *et al.*, 2017). در مطالعه‌ای مشابه مشخص شد که تنش خشکی اثر افزایش و معنی‌داری بر روی میزان متیل کاویکول به‌عنوان یکی از ترکیبات مهم اسانس در ریحان بنفش (*Ocimum basilicum*) داشته است (Malekpoor *et al.*, 2017). تنش خشکی در حد ملایم و متوسط توانسته است میزان برخی ترکیبات مؤثره و مهم نظیر تیمول یک ترکیب فنلی را در گیاه دارویی آویشن دنایی (*Thymus daenensis* L.) افزایش دهد (Abdi *et al.*, 2022; Askary *et al.*, 2018). گزارش شده است که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش پلی فنول در گیاه مرزنگوش (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) گردید. به نظر می رسد که افزایش در پلی فنول‌ها به علت تحریک آنزیم‌های بیوسنتزی از قبیل فنیل آلانین آمونیالیاز و کالکون سنتاز پلی فنل باشد (Heng *et al.*, 2012). آزمایش دیگری مشخص کرد که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه آویشن دنایی گردید (Emami Bistgani *et al.*, 2017).

نتیجه‌گیری

از نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر می‌توان دریافت که صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مورد بررسی در این تحقیق تحت محلول‌پاشی تیمارهای کیتوزان و فنیل آلانین در غلظت‌های اندک در دوره‌های آبیاری چهار و شش روز یک بار، افزایش چشم‌گیری نسبت به شاهد نشان دادند. عملکرد اسانس گیاه زوفا با استفاده از محرک کیتوزان تحت شرایط تنش رطوبتی افزایش یافت. بالاترین میزان اسانس در تیمار دوره آبیاری شش روز یک بار و به‌کارگیری ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان مشاهده شد. نه تنها عملکرد اسانس، بلکه درصد ترکیبات شیمیایی اسانس نیز تحت تأثیر محرک قرار گرفت، برخی از ترکیبات افزایش و برخی ترکیبات تحت تأثیر غلظت‌های بالای محرک‌های مورد استفاده در گروه مشابه با شاهد قرار گرفتند. در نهایت، می‌توان نتیجه گرفت که تحت شرایط تنش رطوبتی، محلول‌پاشی کیتوزان و نیز فنیل آلانین (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان یک روش

می‌تواند برای کاهش اثرات تنش و به دنبال آن افزایش عملکرد کمّی و کیفی اسانس گیاه زوفا مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Abdi, L., Asghari, H.R., Tolyat Abolhasani, M., Amerian, M.R., & Naghdi badi, H. (2022). Effect of salicylic acid on growth and phytochemical characteristics of *Thymus daenensis* under drought irrigation. *Plant Process and Function*, *11*(48), 195-210. (In Persian)
2. Abdul-Hafeez, E.Y., & Ibrahim, O.H.M. (2021). Effects of chitosan and BABA foliar application on flowering and chemical characteristics of German chamomile 'Bode-gold'. *South African Journal of Botany*, *139*, 241-245. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.01.037
3. Adams, R.P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy.* Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.
4. Aghaei, K., Ghasemi Pirbalouti, A., Mousavi, A., Naghdi Badi, H., & Mehnatkesh, A. (2019). Effects of foliar spraying of L-phenylalanine and application of bio-fertilizers on growth, yield, and essential oil of hyssop (*Hyssopus officinalis* L. Subsp. *Angustifolius*). *Biocatalyst Agriculture Biotechnology*, *21*, 101318. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101318
5. Ahmad, B., Khan, M.M.A., Jaleel, H., Sadiq, Y., Shabbir, A., & Uddin, M. (2017). Exogenously sourced γ-irradiated chitosan-mediated regulation of growth, physiology, quality attributes, and yield in *Mentha piperita* L. *Turkish Journal of Biology*, *41*, 388-401. https://doi.org/10.3906/biy-1608-64
6. Alavi Samany, S.M., Ghasemi Pirbalouti, A., & Malekpoor, F. (2022). Phytochemical and morpho-physiological changes of hyssop in response to chitosan-spraying under different levels of irrigation. *Industrial Crops and Products*, *176*, 114330. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114330
7. Albergaria, E.T., Oliveira, A.F., & Albuquerque, U.P. (2020). The effect of water deficit stress on the composition of phenolic compounds in medicinal plants. *South African Journal of Botany*, *131*, 12-17. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.002
8. Ali, B. (2021). Salicylic acid: an efficient elicitor of secondary metabolite production in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *31*, 101884. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101884
9. Alizadeh, Z., & Fattahi, M. (2021). Essential oil, total phenolic, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity of cultivated damask rose (*Rosa damascena*) from Iran: With chemotyping approach concerning morphology and composition. *Scientia Horticulturae*, *288*, 110341. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110341
10. Alizadeh, A., Moghaddam, M., Asgharzade, A., & Mahmoodi Sourestani, M. (2020). Phytochemical and physiological response of *Satureja hortensis* L. to different irrigation regimes and chitosan application. *Industrial Crops and Products*, *158*, 112990. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112990
11. Arnon, D.I. (1975). *Physiological principles of dry land crop production.* In: U.S. Gupta (Ed.) Physiological Aspects of Dry Land Farming. pp. 3-14. Oxford Press.
12. Askary, M., Behdani, M.A., Parsa, S., Mahmoodi, S., & Jamialahmadi, M. (2018). Water stress and manure application affect the quantity and quality of essential oil of *Thymus daenensis* and *Thymus vulgaris*. *Industrial Crops and Products*, *111*, 336-344. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.056
13. Babaei, K., Moghaddam, M., & Farhadi, N. (2021). Morphological, physiological and phytochemical responses of Mexican marigold (*Tagetes minuta* L.) to drought stress. *Scientia Horticulturae*, *284*, 110-116. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110116
14. Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*(1), 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060
15. Bohlman, J., & Keeling, C.I. (2008). Terpenoid biomaterials. *Plant Journal*, *54*, 656-669. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03449.x
16. Caser, M., Chitarra, W., Angiolillod, F., & Perrone, I. (2019). Drought stress adaptation modulates plant secondary metabolite production in *Salvia dolomitica* Codd. *Industrial Crops and Products*, *129*, 85-96. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.068
17. Dere, S., Güneş, T., & Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, *22*(1), 13-17.
18. Dzung, N.A. (2011). *Enhancing crop production with chitosan and its derivatives.* In: Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives, Kim, Se -kwon. Taylor and Francis. Boca Raton London New York.
19. Emami-Bistgani, Z., Siadat, SA., Bakhshandeh, A., & Ghasemi-Pirbalouti, A. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *The Crop Journal*, *5*(5), CJ-00231. https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003

20. Esch, E.H., Lipson, D.A., & Cleland, E.E. (2019). Invasion and drought alter phenological sensitivity and synergistically lower ecosystem production. *Ecology*, *100*(10), 34-45. https://doi.org/10.1002/ecy.2802
21. Fariaszewska, A., Aper, J., Van Huylenbroeck, J., & De Swaef, T. (2020). Physiological and biochemical responses of forage grass varieties to mild drought stress under field conditions. *International Journal of Plant Production, 14,* 335–353. https://doi.org/10.1007/s42106-020-00088-3
22. Fathiazad, F., Mazandarani, M., & Hamedeyazdan, S. (2011). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Hyssopus officinalis L.* from Iran. *Advanced Pharmaceutical Bulletin, 1*(2), 63-67. https://doi.org/10.5681/apb.2011.009
23. Ghanbarzadeh, Z., Mohsenzadeh, S., Rowshan, V., & Moradshahi, A. (2019). Evaluation of the growth, essential oil composition and antioxidant activity of *Dracocephalum moldavica* under water deficit stress and symbiosis with *Claroideoglomus etunicatum* and *Micrococcus yunnanensis*. *Scientia Horticulturae, 256*, 108652. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108652
24. Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpoor, F., Salimi, A., & Golparvar, A. (2017). Exogenous application of chitosan on biochemical and physiological characteristics, phenolic content and antioxidant activity of two species of basil (*Ocimum ciliatum* and *Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. *Scientia Horticulturae, 217,* 114–22. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.031
25. Gorni, P.H., Pacheco, A.C., Moro, A.L., Albuquerque Silva, J.F., Moreli, R.R., & Rodrigues de Miranda, G. (2020). Salicylic acid foliar application increases biomass, nutrient assimilation, primary metabolites and essential oil content in *Achillea millefolium* L. *Scientia Horticulturae, 270,* 109436. https://doi.10.1016/j.scienta.2020.109436
26. Govindaraju, S., & Indra Arulselvi, P. (2018). Effect of cytokinin combined elicitors (L-phenylalanine, salicylic acid and chitosan) on *in vitro* propagation, secondary metabolites and molecular characterization of medicinal herb-*Coleus aromaticus* Benth (L). *Journal of Saudi Society Agriculture Science, 17*(4), 435-44. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.11.001
27. Hayati, A., Rahimi, M.M., Kelidari, A., & Hosseini, S.M. (2021). Effects of humic acid and iron nanochelate on osmolytes content of black cumin (*Nigella sativa* L.) under drought stress conditions. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 37*(5), 809-821. (In Persian). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2021.354715.2995
28. Hawrylak-Nowak, B., Dresler, S., Rubinowska, K., & Matraszek-Gawron, R. (2021). Eliciting effect of foliar application of chitosan lactate on the phytochemical properties of *Ocimum basilicum* L. and *Melissa officinalis* L. *Food Chemistry, 342,* 128358. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128358
29. Heng, Y., Xavier, C., Frette, S., Lars, P., Christensen, S., & Kai, G. (2012). Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60,* 136−143. https://doi.org/10.1021/jf204376j
30. Kheiri, A., Mohajjel Shoja, H., & Sarajoughi, M. (2020). Study on the effect of drought stress and methanol spraying on dehydrine1 gene expression in *Carthamus tinctorius*. *Genetic Engineering and Biosafety Journal, 9,* 67-75.
31. Khosh Eqbal, F., Ghasemi Pirbalouti, A., Enteshari, S., & Davarpanah, S.J. (2020). Qualitative and quantitative effects of drought stress on essential oil compositions of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Journal of Plant Research, 33*(2), 292-303. (In Persian)
32. Kulak, M. (2020). Recurrent drought stress effects on essential oil profile of Lamiaceae plants: An approach regarding stress memory. *Industrial Crops and Products, 154,* 1-17. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112695
33. Malekpoor, F., Ghasemi Pirbalouti, A., Salimi, A., & Momtaz, H. (2017). Effects of chitosan on gene expression of chavicol-O-methyl transferase and phenylpropanoid components of *Ocimum basilicum* (purple cultivar) under water deficit. *Journal of Biology Society, 30,* 391-401.
34. Marinova, D., Ribarova, F., & Atanassaova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal University of Chemistry Technology Metallurgy*, *40*(3), 255-260.
35. Mohammadi, H., Amirikia, F., Ghorbanpour, M., Fatehi, F., & Hashempour, H. (2019). Salicylic acid induced changes in physiological traits and essential oil constituents in different ecotypes of *Thymus kotschyanus* and *Thymus vulgaris* under well watered and water stress conditions. *Industrial Crops and Products, 129,* 561–574. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.046
36. Momeni, M., Ghasemi Pirbalouti, A., Mousavi, A., & Badi, H.N. (2020). Effect of foliar applications of salicylic acid and chitosan on the essential oil of *Thymbra spicata* L. under different soil moisture conditions. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 23*(5), 1142-1153. https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1801519
37. Mozaffarian, V. (2008). *A pictorial dictionary of botanical taxonomy*. Latin-English-French-Germany-Persian. Germany: Koeltz Scientific Books.
38. Mumivand, H., Ebrahimi, A., Morshedloo, M.R., & Shayganfar, A. (2021). Water deficit stress changes in drug yield, antioxidant enzymes activity and essential oil quality and quantity of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). *Industrial Crops and Products, 164,* 113381. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113381

39. Naderi, S., Fakheri, B.A., & Seraji, M. (2014). The effect of chitosan on some physiological and biochemical characteristics of ajowan (*Carum copticum* L.). *Crop science Research in the Dry Areas 1*(1),101-117. https://doi.org/10.22034/csrar.01.01.05. (In Persian)
40. Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M.V., & Senthil-Kumar, M. (2017). Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits. *Front Plant Science, 8*, 1–15. https://doi.10.3389/fpls.2017.00537
41. Poorghadir, M., Mohammadi Torkashvand, A., Mirjalili, S.A., & Moradi, P. (2020). Interactions of amino acids (proline and phenylalanine) and biostimulants (salicylic acid and chitosan) on the growth and essential oil components of Savory (*Satureja hortensis* L.). *Biocatalyst Agriculture Biotechnology, 30*, 101815. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101815
42. Pradhan, J., Sahoo, S.K., Lalotra, S., & Sarma, R.S. (2017). Positive impact of abiotic stress on medicinal and aromatic plants. *International Journal of Plant Sciences, 12*(2), 309-313. https://doi.10.15740/HAS/IJPS/12.2/309-313
43. Rahmani Samani, M., Ghasemi Pirbalouti, A., Moattar, F., & Golparvar, A.R. (2019). L-phenylalanine and bio-fertilizers interaction effects on growth, yield and chemical compositions and content of essential oil from the Sage (*Salvia officinalis* L.) leaves. *Industrial Crops and Products, 137*, 1-8. https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.019
44. Rajabzadeh, Sh., Ghasemi Pirbalouti, A., Yadegari, M., & Rahimi, T. (2024). Physiological and phytochemical responces of *Rosa damascena* Mill. To the foliar application of different elicitors. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 27*. https://doi.org/10.1080/0972060X.2023.2255613
45. Rajabzadeh, S., Ghasemi Pirbalouti, A., Yadegari, M., & Rahimi, T. (2023). Evaluation of the foliar application effect on the chemical compositions of *Rosa damascena* Mill. essential oil of Chaharmahal va Bakhtiari province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 10*(2), 80-95. (In Persian). https://doi.org/10.30495/ejmp.2022.1954175.1682
46. Saebi, A., Minaei, S., Mahdavian, A.R., & Taghi Ebadi, M. (2021). Quantity and quality of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) affected by precision harvesting. *International Journal of Horticultural Science and Technology, 8*(3), 291-304. https://doi.org/10.22059/ijhst.2020.298266.346
47. Sasani, N., Pâques, L.E., Boulanger, G., & Singh, A.P. (2021).Physiological and anatomical responses to drought stress differ between two larch species and their hybrid. *Trees, 35*, 1467-1484. https://doi.org/10.1007/s00468-021-02129-4
48. Shaykh-Samani, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Yadegari, M., & Rajabzadeh, F. (2023). Foliar application of salicylic acid improved the yield and quality of the essential oil from *Dracocephalum kotschyi* Boiss. under water deficit Stress. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 26*, 769-779. https://doi.10.30495/iper.2022.1952014.1771
49. Thakur, M., & Kumar, R. (2020). Foliar application of plant growth regulators modulates the productivity and chemical profile of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) under mid hill conditions of the western Himalaya. *Industrial Crops and Products, 158*, 113024. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113024
50. Xiaolu, W., Jie, Y., Aoxue, L., & Yu, C. (2016). Drought stress and re-watering increase secondary metabolites andenzyme activity in *Dendrobium moniliforme*. *Industrial Crops and Products, 94*, 385-393. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.041
51. Yadegari, M. (2022). Effects of NPK, botamisol, and humic acid on morphophysiological traits and essential oil of three *Satureja* species under drought stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 38*(1), 61-80. (In Persian). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2022.356264.3073
52. Yadegari, M. (2018). Foliar application effects of salicylic acid and jasmonic acid on the essential oil composition of *Salvia officinalis*. *Turkish Journal of Biochemistry, 43*(4), 417-424. https://doi.org/10.1515/tjb-2017-0183
53. Yadegari, M. (2017). Irrigation periods and Fe, Zn foliar application on agronomic characters of *Borago officinalis, Calendula officinalis, Thymus vulgaris* and *Alyssum desertorum*. *Communication in Soil Science and Plant Analysis, 48*(3), 307–315. https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1269796
54. Zakerian, F., Sefidkon, F., Abbaszadeh, A., & Kalateh, S. (2020). Drought stress and *micorrhiza* fungi effects on physiologic and essential oil characters of *Thymus sahandica* Bornm. *Iranian Journal of Horticultural Science, 51*(1), 189-201. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijhs.2018.267489.1521
55. Zamani, S., Ghasemnejad, A., Alizadeh, M., & Alami, M. (2016). Investigating the effect of salinity and salicylic acid on the activity of phenylalanine ammonialyase enzyme and Phenylpropanoids compounds of *Cynara scolymus* L. in vitro. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 3*(4), 28-39. (In Persian). https://doi.org/10.30495/ejmp.2016.694504
56. Zandalinas, S.I., Mittler, R., Balfagon, D., Arbona, V., & Gomez-Cadenas, A. (2017). Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiology of Plant, 162*(1), 2–12. https://doi.org/10.1111/ppl.12540

57. Zawislak, G. (2013). Morphological characters of *Hyssopus officinalis* L. and chemical composition of its essential oil. *Modern Phytomorphology*, *4*, 93–95. https://doi.org/10.5281/zenodo.161195